

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dr. Kühn, Prof. Dr. Lasch, Prof. Dr. Dengler
(Abt. Prof. Dr. H. G. Lasch)
und dem Institut für Bakteriologie und Immunologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. H. Blobel

Untersuchungen der Serumfette beim generalisierten Sanarelli-Shwartzman-Phänomen der trächtigen Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität
zu Gießen

Eingereicht von
Efthimios Jannakopulos
Tierarzt aus Aegion/Griechenland

Gießen 1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545909_0031

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dr. Kühn, Prof. Dr. Lasch, Prof. Dr. Dengler
(Abt. Prof. Dr. H. G. Lasch)
und dem Institut für Bakteriologie und Immunologie
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. H. Blobel

Untersuchungen der Serumfette beim generalisierten Sanarelli-Shwartzman-Phänomen der trächtigen Ratte

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
bei der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität
zu Gießen

Eingereicht von
Efthimios Jannakopulos
Tierarzt aus Aegion/Griechenland

Gießen 1969

Von den Mitgliedern des Rates und der
 des Rates der Universität
 beschlossen und im Jahre 1870 im
 Jahre 1870 im Jahre 1870
 und dem Rat der Universität
 der Rat der Universität
 beschlossen im Jahre 1870

Unterschieden der Sammlungen der
 Sammlungen der Sammlungen der



ausgegeben
 von der
 der Universität
 der Universität
 in Leiden

eingesandt von
 Bibliothek
 der Universität

Dekan: Professor Dr. H. Tillmann

1. Berichterstatter: Professor Dr. H.G. Blobel

2. Berichterstatter: Professor Dr. H.G. Lasch

Tag der mündlichen Prüfung: 4. Juli 1969

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1,0 Einleitung	1
2,0 Literaturübersicht	3
2,1 Gerinnungsveränderungen beim Sanarelli-Shwartzman-Phänomen (SSP)	3
2,2 Auslösung des generalisierten SSP durch Methoden, die von der klassischen Methode abweichen	4
2,3 Änderungen der Blutlipide während der Schwangerschaft	6
2,4 Änderungen der Blutlipide während des generalisierten SSP	7
2,5 Verhinderung des generalisierten SSP	8
2,51 Behandlung mit "essentiellen" Phospholipiden (EPL)	8
2,52 Behandlung mit Vitamin E	9
2,53 Behandlung mit Vitamin B ₆	10
2,6 Fragestellung	11
3,0 Material und Methoden	13
3,1 Material	13
3,11 Versuchstiere	13
3,12 Endotoxin	13
3,13 Behandlungsmittel	14
3,2 Methoden	15
3,21 Technik zur genauen Feststellung des Trächtigkeitstages	15
3,22 Art der Injektionen und Technik der Blutgewinnung	16
3,221 Entblutungstechnik	17
3,23 Lipidanalysen	18
3,231 Chemische Bestimmungen	18
3,2311 Bestimmung der freien Fettsäuren	18
3,2312 Bestimmung der Triglyceride	21
3,2313 Bestimmung des Gesamtcholesterins	24
3,2314 Bestimmung der veresterten Fettsäuren	24
3,232 Lipidelektrophorese	26
3,24 Statistische Auswertung der Befunde	28

4,0 Ergebnisse	30
4,1 Feststellung der Serumlipidkonzentration bei nicht-trächtigen und trächtigen Kontrolltieren	30
4,2 Untersuchungen zur Feststellung der zur Auslösung des SSP bei trächtigen Ratten notwendigen Endotoxine	30
4,3 Prüfung von 2 Endotoxinchargen aus E. coli 055	31
4,31 Prüfung des Endotoxins Difco Nr. 1	31
4,32 Prüfung des Endotoxins Difco Nr. 2	32
4,4 Experimente zur Auslösung des generalisierten SSP und zur Feststellung der Serumlipidkonzentrationen bei trächtigen Ratten nach einmaliger Injektion von Escherichia coli-Endotoxin (E. coli = ET 31)	32
4,41 Versuchsreihe 1: Einmalige Injektion von 400 Gamma Endotoxin bei trächtigen Ratten	33
4,42 Die Verhinderung des generalisierten SSP der trächtigen Ratte	39
4,421 Versuchsreihe 2: mit "essentiellen" Phospholipiden (EPL)	39
4,422 Versuchsreihe 3: mit Vitamin E	41
4,423 Versuchsreihe 4: mit Vitamin B ₆	43
4,424 Versuchsreihe 5: mit EPL-purosum	45
4,43 Versuchsreihe 6: Einfluß der "essentiellen" Phospholipide auf die Trächtigkeitslipidämie	46
4,44 Versuchsreihe 7: Einfluß des Endotoxins bei einmaliger i.v. Injektion auf die Serumlipide von nichtträchtigen Ratten	47
5,0 Diskussion	49
6,0 Zusammenfassung	68
7,0 Tabellen	70
8,0 Abbildungen	88
9,0 Literaturverzeichnis	99
Lebenslauf	

1,0 Einleitung

SANARELLI⁸⁵ entdeckte 1924 beim Experimentieren mit Choleravibrionen das generalisierte, SHWARTZMAN⁹² beim Experimentieren mit Typhusvaccine das lokale oder kutane "Sanarelli-Shwartzman-Phänomen". APITZ² erkannte, daß beide Versuchsanordnungen unter einem gemeinsamen Gesichtspunkt zu sehen sind. Diese Arbeit befaßt sich mit dem generalisierten Sanarelli-Shwartzman-Phänomen (SSP) des Kaninchens, das in der englischen Literatur "generalized Shwartzman reaction" genannt wird.

Das klassische Sanarelli-Shwartzman-Phänomen wurde bei Kaninchen durch 2, im Abstand von etwa 24 Stunden aufeinander folgende, intravenöse Injektionen von Endotoxinen gramnegativer Bakterien ausgelöst.

Die Mehrzahl der Versuchstiere starb innerhalb der ersten 24 Stunden nach der zweiten Injektion. Bei der Sektion wiesen die Kaninchen eine hämorrhagische Diathese im Bereich der inneren Organe und doppelseitige Nierenrindennekrosen auf.

Bei der mikroskopischen Untersuchung fanden sich fibrinhaltige Präzipitationen in den peripheren Gefäßen, Blutungen und Nekrosen im Bereich zahlreicher Organe^{2, 7, 64}.

Das klassische SSP, ausgelöst durch zweimalige i.v. Endotoxininjektionen, konnte bisher nur bei Kaninchen erzeugt werden. Versuche mit der gleichen Methode bei Ratten und Affen schlugen fehl. Modifikationen der klassischen Methode führten dann aber zum Erfolg. So hatte schon APITZ³ 1934 das Shwartzman-Phänomen bei trächtigen Kaninchen mit einer einzigen Endotoxininjektion auslösen können. Dieses Modell konnte erfolgreich von WONG¹⁰⁹ und KALEY, DEMOPOULOS und ZWEIFACH⁴⁵ auf die Ratte übertragen werden.

Versuche an trächtigen Tieren stellten insofern eine Besonderheit dar, als sie der Pathologie des Menschen am nächsten kamen. Die häufigsten Beobachtungen von Äquivalenten eines generalisierten SSP beim Menschen wurden bei Graviden gemacht²³.

Bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen wurde zuerst bemerkt, daß das generalisierte SSP des Kaninchens mit Veränderungen des Fettstoffwechsels einherging (SANARELLI⁸⁵, APITZ³).

Eine Vermehrung der Serumfette wurde erstmals 1958 bei der lokalen Shwartzmanschen Reaktion des Kaninchens von KOVATS und Mitarb.⁵¹ festgestellt. HIRSCH und Mitarb.³⁴ berichteten 1962, daß es beim generalisierten SSP des Kaninchens zu einer Vermehrung der Serumfette kam.

2,0 Literaturübersicht

2,1 Gerinnungsveränderungen beim SSP

Doppelseitige Nierenrindennekrosen sollen durch Verschluß der Glomerulumkanillaren mit intravasalen thrombozytenhaltigen Fibrinpräzipitaten entstanden sein (THOMAS und GOOD¹⁰⁰, PAPPAS et al.⁷⁴, BRUNSON et al.¹⁵ und MCKAY et al.⁶⁴).

Typisch für das generalisierte SSP waren zahlreiche Fibrinthromben, die bei Kaninchen etwa 4 Stunden nach der zweiten, bei trächtigen Ratten weniger als 3 Stunden nach der ersten i.v. Endotoxininjektion einen großen Teil aller Glomerulumkanillaren der Nieren verlegten (BOHLE und Mitarb.⁷, MCKAY⁶³).

Die hämorrhagische Diathese beim generalisierten SSP war Folge eines kombinierten hämostatischen Defektes, einer sogenannten "Verbrauchskoagulopathie" (LASCH et al.⁵⁴). Darunter ist ein Aktivitätsverlust der Plasmafaktoren Prothrombin, Faktor V, VII, VIII, IX, Plättchen-Agglutinations-Test nach Breddin (PTA) und Fibrinogen zu verstehen (HOIGNE³⁷, KLEINMAIER et al.⁴⁸, KOLLER et al.⁴⁹, MCKAY und SHAPIRO⁶¹), ferner gehören quantitative und qualitative Störungen der Thrombozyten zum Bild der Verbrauchskoagulopathie dazu (LASCH et al.⁵⁵, WEBER et al.¹⁰⁴).

Dem Verbrauch der einzelnen Gerinnungsfaktoren ging in der Regel eine Hyperkoagulopathie voraus (LASCH et al.⁵⁶).

Die komplexe Störung des Gerinnungssystems war die Folge einer vermehrten intravasalen Funktion von endogenem Thrombin (KLEINMAIER et al.⁴⁸, RODRIGUEZ-ERDMANN und LASCH⁸⁴), das nicht nur zur Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin führte, sondern über die visköse Metamorphose der Thrombozyten (LÜSCHER⁵⁸) den Thrombozytensturz auslöste (LASCH et al.⁵⁵, MCKAY und SHAPIRO⁶¹).

Die in der Blutbahn verbleibenden Plättchen waren an Adenosintriphosphat (ATP) und anderen Nukleotiden verarmt (WEBER et al.¹⁰⁴).

RODRIGUEZ-ERDMANN⁸³ beobachtete während der Entwicklung des generalisierten Shwartzman-Phänomens bei trächtigen Kaninchen starke Veränderungen der Plasmagerinnungsfaktoren. Er hatte nachgewiesen, daß bei trächtigen Kaninchen die Plättchenzahl, die Prothrombinaktivität, der Faktor V (Ac-G = Accelerator-Globulin) und der Fibrinogengehalt innerhalb einiger Stunden nach der Endotoxininjektion stark absanken.

MÜLLER-BERGHHAUS⁶⁸ hat nachgewiesen, daß bei gleicher Endotoxindosis der Abfall des Fibrinogenspiegels und der Plättchenzahl bei nichtträchtigen weit geringer als bei trächtigen Ratten war. Weiterhin war zu beachten, daß die trächtige Ratte ein höheres Gerinnungspotential als die nichtträchtige hatte, da der Fibrinogenspiegel weit über den Normalwerten lag.

2,2 Auslösung des generalisierten SSP durch Methoden, die von der klassischen Methode abweichen

Wie einleitend ausgeführt wurde, konnte das klassische SSP, ausgelöst durch zweimalige i.v. Endotoxininjektionen, bisher nur bei Kaninchen erzeugt werden. Zahlreiche Versuche, ein generalisiertes (SHWARTZMAN⁹³) oder lokales (APITZ²) Shwartzman-Phänomen bei der Ratte hervorzurufen, blieben nach zweimaliger Applikation von Endotoxin erfolglos. GRONVAL und BRUNSON³¹ waren imstande, das generalisierte Shwartzman-Phänomen bei der Ratte durch intraperitoneale Injektion von Endotoxinen gramnegativer Bakterien in Verbindung mit hochmolekularen sauren Polymeren (Natrium-Polyanetholsulphonat) oder durch intraperitoneale Injektion einer hohen Dosis von Natrium-Polyanetholsulphonat allein zu erzeugen. Sie sahen, daß

die groben und feingeweblichen Veränderungen denjenigen der Kaninchen glichen, daß aber diese Veränderungen bei Ratten weniger ausgeprägt waren als bei Kaninchen.

Modifikationen der klassischen Methode führten zum Erfolg.

Seit den ersten Untersuchungen von APITZ³ sind nur wenige Berichte über die Erzeugung des generalisierten Schwartzman-Phänomens bei trächtigen Kaninchen mit einer Endotoxindosis publiziert worden (RODRIGUEZ-ERDMANN⁸³).

McKAY und Mitarb.⁶² zeigten, daß nicht selten Komplikationen entstanden, wenn bakterielle Infektionen während der Schwangerschaft des Menschen auftraten. Solche Infektionen fanden sich beim septischen Abort und dem vorzeitigen Riß der Eihäute mit Chorionamnionitis und Placentitis. Die pathologisch-anatomischen Befunde waren mit denen des Kaninchens mit generalisiertem Schwartzman-Phänomen vergleichbar.

Seit von den beschriebenen Beobachtungen bekannt war, daß trächtige Kaninchen nach einer einmaligen Endotoxingabe ein generalisiertes SSP entwickelten, und seit bekannt war, daß auch schwangere Frauen für Störungen der Blutgerinnung, die dem generalisierten SSP ähnelten, besonders empfänglich waren, erschien es wichtig, herauszufinden, ob und wie die Trächtigkeit bei anderen Tierarten für das SSP vorbereitend wirkte.

WONG¹⁰⁹ berichtete 1962, daß 1 einzelne i.v. Injektion von Endotoxinen gramnegativer Bakterien bei trächtigen Ratten bilaterale Nierenrindennekrosen, Hämorrhagien und Nekrosen in verschiedenen Organen erzeugte. Die Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren wurden bereits 3 Stunden nach der i.v. Injektion gefunden.

MÜLLER-BERGHAUS⁶⁸ konnte bei trächtigen Ratten durch einmalige i.v. Injektion von 0,1 bis 0,4 mg Endotoxin gramnegativer Bakterien am 20. Trächtigkeitstag das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen auslösen. Je nach der Endotoxindosis

fanden sich bei 50-100% der Versuchstiere Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren. Das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen konnten STAMLER⁹⁶ und später McKAY⁶⁵ bei trächtigen Ratten außer durch Verabreichung von Endotoxinen gramnegativer Bakterien auch durch Verfütterung einer bestimmten Diät hervorrufen, die reich an oxydierten Fetten, aber arm an Vitamin E war.

SYMEONIDIS⁹⁴ und STAMLER⁹⁷ konnten Nierenrindennekrosen bei der trächtigen Ratte durch häufige Progesterongaben während der letzten Trächtigkeitstage erzeugen.

WAUGH et al.¹⁰³ riefen Nierenrindennekrosen mit Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren bei trächtigen Ratten durch intraperitoneale Injektion großer Dosen von Serotonin hervor.

McKAY und WONG⁶⁵ konnten das SSP bei trächtigen Mäusen durch Verfütterung eines bestimmten oxydierten Öles auslösen.

Diese Versuche an trächtigen Tieren stellten insofern eine Besonderheit dar, als sie der Pathologie des Menschen nahe kommen. Beobachtungen von Äquivalenten eines SSP wurden beim Menschen häufig bei Graviden gemacht.

DUFF und MORE beobachteten, daß von 71 Patienten mit Nierenrindennekrosen 48 schwangere Frauen waren. Besonders waren Frauen mit Infektionen in der Schwangerschaft, mit septischem Abort und mit vorzeitiger Plazentalösung betroffen. BOHLE und KRECKE⁸ beobachteten Ähnliches.

Es erhob sich die Frage, warum der schwangere Organismus für das SSP besonders empfänglich ist.

2,3 Änderung der Blutlipide während der Schwangerschaft

Es ist hinlänglich bekannt, daß während der Schwangerschaft ein Anstieg aller Lipidfraktionen des Blutes eintritt^{13, 38, 89}.

2,4 Änderungen der Blutlipide während des generalisierten Sanarelli-Schwartzman-Phänomens

Bei pathologisch-anatomischen Untersuchungen wurde zuerst bemerkt, daß es beim generalisierten SSP des Kaninchens zu Veränderungen des Fettstoffwechsels kommt.

Schon SANARELLI⁸⁵ beobachtete 1924 feinkörnige Fettablagerungen bei der Ausbildung des nach ihm benannten Phänomens. Vor allem am Darm und in den Nieren fand er neben Hämorrhagien ausgedehnte "fettige Nekrosen".

APITZ³ sah 1934 nach einer einmaligen Gabe von Coli-filtrat Verfettungen der Kupfferschen Sternzellen, der Leberparenchymzellen und der Herzmuskulatur. Bei der histologischen Untersuchung von Kaninchen mit generalisiertem SSP beschrieb er im Bereich der Nierenrindennekrosen allerdings nur Fibrinthromben.

Histochemische Untersuchungen von BOOTH und Mitarb.¹¹ zeigten im Bereich von Gefäßläsionen beim SSP Anreicherungen von freien Fettsäuren, Neutralfetten, Cholesterinestern und Phosphatiden.

Mit Hilfe des Elektronenmikroskops entdeckten BOHLE und Mitarb.⁸ in den Thromben der Glomerulumschlingen Vakuolen, die sie als Fett-Tröpfchen ansahen.

Eine Vermehrung der Serumfette wurde erstmals 1958 bei der lokalen Schwartzmanschen Reaktion des Kaninchens von KOVATS und Mitarb.^{51, 52} bemerkt. Diese Autoren fanden 3-6 Stunden nach der auslösenden Injektion im Serum eine zunehmende Erhöhung der Gesamtlipide, des freien und veresterten Cholesterins, der Phosphatide und der Beta-Lipoproteine.

HIRSCH und Mitarb.³⁴ sahen Veränderungen der Serumlipide beim generalisierten SSP. Schon 2 Stunden nach der ersten Endotoxininjektion waren die freien Fettsäuren auf das Doppelte des Ausgangswertes angestiegen. Nach der zweiten Injektion hatten sie das Vierfache der Ausgangswerte erreicht. Gleichzeitig nahmen Triglyce-

ride, Cholesterin und Phospholipide zu. Auf eine Deutung dieser Befunde wurde von den Untersuchern verzichtet.

HUTH und Mitarb.⁴⁰ zeigten mit Hilfe von Untersuchungen an Kaninchen, daß es beim generalisierten SSP neben der Koagulopathie gesetzmäßig zu Fettstoffwechselstörungen kommt. HUTH³² beobachtete im Verlauf der zweimaligen Verbrauchsreaktion nach Endotoxin beim Kaninchen einen kontinuierlichen Anstieg von freien Fettsäuren, Triglyceriden, veresterten Fettsäuren, Cholesterin, Phosphatiden und Beta-Lipoproteinen.

HUTH, SCHOENBORN und KNORPP⁴¹ hatten die endogene Hyperlipämie durch Infusion einer Fettemulsion ersetzt; eine folgende Endotoxininjektion an Kaninchen produzierte dem generalisierten SSP ähnliche Befunde.

Vergleichbare Ergebnisse wurden von McKAY und Mitarb.^{65, 66} sowie RENAUD und Mitarb.⁸² erzielt, die bei Ratten allein durch eine fettreiche Diät eine typische Verbrauchskoagulopathie, nämlich ein generalisiertes SSP bzw. eine thrombotisch-thrombozytopenische Purpura, auslösen konnten.

2,5 Verhinderung des generalisierten SSP

2,51 Behandlung mit "essentiellen" Phospholipiden (EPL)

MÜLLER-BERGHAUS et al.⁶⁹ konnten durch rechtzeitige Applikation "essentieller" Phospholipide (EPL) bei Normalisierung des Cholesterin/Phospholipid-Quotienten die zweite Injektion von Endotoxin bei Kaninchen wirkungslos machen, d.h. das SSP trat nicht mehr in klassischer Weise auf, und die Tiere überlebten das sonst tödliche Experiment.

SCHRADE und Mitarb.⁸⁸ erzielten bei verschiedenen Lipämieformen des Menschen einen Serumkläreffekt durch intravenöse oder perorale Verabreichung von EPL.

SCHÖN und JÖRG⁸⁷ fanden einen klärungsbeschleunigenden Effekt von essentiellen Phospholipiden bei 12 von 16 Patienten. DORNBUSCH und ZIELKE²² sahen nach per os Gabe von EPL bei Ratten eine weitgehende Hemmung der Entwicklung von atherosklerotischen Gefäßveränderungen und eine Verminderung des Serumcholesterins gegenüber ausschließlich mit Sklerosediät ernährten Kontrolltieren.

JUCHEMS und GROSS⁴⁴ beobachteten bei i.v. Applikation von 500 mg EPL-Substanz (Lipostabil) einen signifikanten Abfall der veresterten Fettsäuren im Blut innerhalb der ersten 2 Stunden bei Menschen mit Arteriosklerose.

2,52 Behandlung mit Vitamin E

KAUNITZ et al.⁴⁷ bewiesen bei Versuchen zur Auslösung des SSP an trächtigen Ratten durch Fütterung von oxydiertem Lebertran mit und ohne Vitamin E-Zusatz, daß Tiere, die eine Vitamin E-Zulage bekamen, vom SSP verschont blieben. Die anderen Tiere dagegen, die oxydierten Lebertran ohne Vitamin E bekamen, entwickelten ein typisches SSP. KAUNITZ et al.⁴⁷ gaben an, daß Vitamin E das generalisierte SSP, ausgelöst durch Diät, verhindert.

STEPP et al.⁹⁸ beschrieben, ohne eine Erklärung dafür zu geben, daß Vitamin E neben einer sehr ausgeprägten Wirkung auf den Eiweiß- und Kohlenhydratstoffwechsel auch eine solche auf den Fettstoffwechsel zu haben schien. Vitaminreiche Ernährung vermehrte die Fettdepots der Maus bis zur Fettsucht und bewirkte eine "fettige Metamorphose" einiger Organe (Leber, Nieren).

Vitamin E hatte vor allem eine Schutzwirkung für leicht oxydierbare ungesättigte Fettsäuren, während das schwer oxydierbare Fett mit gesättigten Fettsäuren weniger auf Vitamin E als Stabilisator angewiesen war⁹¹.

KAUNITZ et al.⁴⁷ zeigten weiterhin, daß Vitamin E zu einer erhöhten Lipogenese führte, die bei Tieren mit einem SSP beeinträchtigt war. Die Zellpermeabilität war bei den mit Vitamin E behandelten Ratten geringer als bei Tieren, die durch Fettdiät ohne Vitamin E-Zusatz ein SSP entwickelten.

GERVASONI und VANNOTTI²⁸ nahmen, ausgehend von der Vorstellung, daß Vitamin E in den intermediären Lipidstoffwechsel eingreift, an, daß direkte Beziehungen zwischen dem Vitamin E und der Arteriosklerose vorhanden waren, denn mit der Zunahme sklerotischer Läsionen stieg der Vitamin E-Spiegel im Blut.

2,53 Behandlung mit Vitamin B₆

Untersuchungen über den Einfluß von Vitamin B₆ in Kombination mit Endotoxin während der Auslösung des generalisierten SSP liegen bisher nicht vor.

Untersuchungen von WAGNER und WAGNER¹⁰¹ ergaben, daß der Fettsäurestoffwechsel unter dem Einfluß von Vitamin E und B₆ steht. Sicher schien jedoch zu sein, daß Pyridoxalphosphat nicht direkt, d.h. als Coenzym, am Lipidstoffwechsel beteiligt war, sondern diesen sekundär beeinflusste⁷⁰.

Die Verteilung der Lipoproteine und der Cholesteringehalt in der Alpha- und Beta-Lipoprotein-Fraktion blieb nach Vitamin B₆-Gabe bei Ratten und Kaninchen unverändert¹².

2,6 Fragestellung

Zunächst sollten die von McKAY und KAUNITZ⁶⁶ sowie anderen Autoren erhobenen Befunde überprüft werden, ob die Serumlipide während der Trächtigkeit der Ratte anstiegen. Ferner sollten das wirksamste Endotoxin und die Dosis festgestellt werden, die imstande waren, bei einmaliger Injektion das SSP bei trächtigen Ratten mit großer Regelmäßigkeit auszulösen. Weiterhin war die Wirkung der einmaligen Endotoxininjektion auf die Serumlipide der trächtigen und nichtträchtigen Ratte festzustellen. Ausgehend von der Tatsache, daß die Schwangerschaft den mütterlichen Organismus für das Auslösen des generalisierten SSP vorbereitet, erhob sich die Frage, warum der schwangere Organismus für das SSP besonders empfänglich war. Spielten die Blutfette bei der veränderten Situation des tierischen Organismus eine Rolle?

Durch Vorbehandlung der Versuchstiere mit verschiedenen Mitteln wurde versucht, die Frage zu klären, ob eine Verhinderung des SSP und eine Beeinflussung der Serumlipide bei der trächtigen Ratte möglich waren. Die Annahme, daß EPL-Substanz das generalisierte SSP bei Kaninchen verhindert, führte zu den vorliegenden Versuchen, die Wirkung von EPL und den einzelnen Komponenten der EPL-Substanz in Kombination mit Endotoxin zu prüfen. Dazu wurde bei trächtigen Ratten in Anlehnung an die Kaninchenversuche mit EPL von MÜLLER-BERGHaus et al.⁶⁹ vor der Endotoxininjektion eine zweimalige Behandlung vorgenommen, die entweder in zweimaligen Gaben von EPL oder in Verabreichung von zweimal Vitamin E, Vitamin B₆ oder EPL-purosum (Emulsion) bestand.

Im Einzelnen wurden in der ersten Versuchsreihe die Häufigkeit des nach einmaliger Endotoxininjektion bei trächtigen Ratten ausgelösten generalisierten SSP und die Veränderungen der Serumkonzentrationen von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden, freien Fettsäuren und den elektrophoretisch getrennten Lipoproteinfraktionen untersucht.

In der 2., 3., 4., und 5. Versuchsreihe sollte geprüft werden, ob eine Behandlung mit "essentiellen" Phospholipiden (EPL), mit Vitamin E, Vitamin B₆ und EPL-purum die Auslösung des Phänomens verhindern konnte. Ferner sollte festgestellt werden, ob und wie eine solche Medikation die Serumlipidkonzentrationen beeinflussen konnte. In der 6. Versuchsreihe wurde der Einfluß von EPL ohne Endotoxin auf die Serumlipide untersucht. Anschließend wurde in der 7. Versuchsreihe geprüft, welche Wirkung die einmalige Endotoxinapplikation auf die Serumlipide der nicht trächtigen Ratte hatte.

3,0 Material und Methoden

3,1 Material

3,11 Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an jungen weiblichen, trächtigen und nichtträchtigen Albinoratten mit einem Körpergewicht zwischen 170 und 300 g durchgeführt. Alle Ratten stammten aus einem einzigen Zuchtbetrieb und hatten am Tage der Ablieferung im Tierstall ein Körpergewicht von 60-90 g.

Alle Versuchstiere wurden vom Tag der Aufnahme an bis zum Tag der Entblutung mit Futter und Wasser ad libitum versorgt. Die Ernährung der Versuchstiere erfolgte während der Versuchsdauer immer mit dem gleichen Futter, Mischfutter für Versuchstiere (Ratten) "SSNIFF"*.

Das in 4,5 und 6 mm Pellets verwendete Futter bestand aus: Eiweißkonzentrat 17%, Futtergetreideschrot 57%, Haferflocken 8%, Weizenkleie 5%, Tapiokamehl 4%, Weizenkeime 3,5%, Rohrzuckermelasse-schlempe 2%, fermentiert, getr., Luzernegrasgrünmehl 1%, Mineralstoffmischung 1%, Phosphor-Futterkalk 0,5%, (Civi) Vitamin A, Vitamin D₃, Vitamin B₂ und Vitamin E-Vormischung, gebunden an Weizenvollmehl, 0,3%.

3,12 Endotoxin

Für die Durchführung der Versuche wurden Endotoxine 3 verschiedener Chargen von Lipopolysacchariden von *Escherichia coli* (E. coli) der serologischen Gruppe 055 verwendet.

* Fa. Georg Plage, Futtermühle Soest GmbH, Soest/Westfalen

Alle 3 Chargen wurden nach der BOIVIN-Methode¹⁰ mit Trichloressigsäure extrahiert. Das Datum und der Herstellungsort der Extraktion waren verschieden.

1. E. Coli 055 der Difco-Laboratorien⁽¹⁾. Die Extraktion wurde 1966 durchgeführt: Difco Nr. 1
2. E. Coli 055 der Difco-Laboratorien⁽¹⁾. Die Extraktion wurde 1967 durchgeführt: Difco Nr. 2
3. E. Coli 055 (ET 31) von Dr. Urbaschek, Mannheim⁽²⁾. Die Extraktion wurde 1967 durchgeführt: ET 31

Jede der 3 genannten Endotoxinchargen wurde jeweils in 1 ml steriler Kochsalzlösung in gewünschter Konzentration gelöst.

3,13 Behandlungsmittel

Die Verhinderung des generalisierten SSP wurde mit folgenden Präparaten versucht:

1. Vitamin E⁽³⁾ (1 Ampulle von 2 ml enthält 100 mg Vitamin E-acetat als kolloidale wässrige Lösung).
2. Vitamin B₆⁽⁴⁾ (1 Ampulle zu 2 ml enthält 100 mg Vitamin B₆ (Pyridoxinhydrochlorid)).
3. EPL = Essentielle Phospholipide⁽⁵⁾.

(1) Difco Laboratories, Detroit, USA.

(2) Für die Überlassung des Endotoxins danke ich an dieser Stelle Herrn Priv.Do. Dr. B. Urbaschek/Mannheim herzlich.

(3) EPHYNAL^R, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/Baden, Deutschland

(4) BENADON^R, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach/Baden, Deutschland

(5) Nattermann/Köln

(1 Ampulle zu 10 ml enthält:

1000,0 mg EPL

2,2 mg Alpha-Tocopherolacetat

5,0 mg Pyridoxalhydrochlorid

sowie einen nicht näher angegebenen Lösungs-
vermittler)

4. EPL-purosum⁽¹⁾ = Essentielle Phospholipide ohne
Zusatz von Vitamin E, Vitamin B₆ und Lösungsver-
mittler.

Von den obengenannten Mitteln wurden Vitamin E
1:200 und Vitamin B₆ 1:100 mit steriler physiologi-
scher Kochsalzlösung verdünnt.

Essentielle Phospholipide (EPL-Substanz) waren die
von EIKERMANN²⁶ dargestellten Cholin-Phosphorsäure-
Diglyceridester, die im Spektrum der Gesamtfettsäu-
ren bis zu etwa 80% essentielle Fettsäuren, speziell
(ca. 70%) Cis-Cis-Linol-Säure, enthielten.

3,2 Methoden

3,21 Technik zur genauen Feststellung des Trächtigkeits- tages

Außer 23 juvenilen Albinoratten, die in nichtträch-
tigem Zustand in den Versuch kamen, wurden alle an-
deren Tiere 2-3 Tage nach der Ablieferung im Tier-
stall mit männlichen, der gleichen Rasse angehören-
den Tieren über Nacht zusammengesetzt. Morgens wurde
von jeder weiblichen Ratte ein Vaginalabstrich ge-
nommen und in nativem Zustand auf vorhandene Sper-
mien mikroskopisch untersucht. Tiere, die über Nacht
gedeckt worden waren, wiesen Spermien bei der mikro-
skopischen Untersuchung des Vaginalabstriches auf.

(1) Nattermann/Köln

Der Tag, an dem Spermien im Abstrich vorgefunden wurden, galt als der erste Trächtigkeitstag. Die genannte Methode zur Feststellung des Trächtigkeitstages hat sich gut bewährt, nur ein sehr geringer Teil (ca. 1%) der für trächtig gehaltenen Tiere erwies sich 20 Tage später als nichtträchtig. Die Versuche mit der Verabreichung von Endotoxin allein oder zusammen mit einem der obengenannten Behandlungsmittel erfolgten am 20. Trächtigkeitstag (d.h. 2-3 Tage vor der zu erwartenden Geburt).

3,22 Art der Injektion und Technik der Blutgewinnung

Jedes Injektionsmittel wurde i.v. an einer der lateralen Schwanzvenen verabreicht. Zur Durchführung der i.v. Injektion wurden die Versuchstiere mit Äther in einem Glaszylinder anästhesiert. Die i.v. Injektionen dauerten verschieden lang. Die Verabreichung von Endotoxin und physiologischer Kochsalzlösung dauerte etwa 1 Minute; die Verabreichung von EPL und Vitaminpräparaten erfolgte in durchschnittlich 3 Minuten, um der Gefahr einer Lungenembolie vorzubeugen. Die Entblutung erfolgte durch Herzpunktion, nachdem die Tiere vorher mit Äther anästhesiert worden waren. Das tief in Narkose liegende Tier wurde auf einer Holzplatte an den 4 Gliedmaßen aufgespannt. Nach Eröffnung des Thorax war das noch normal schlagende Herz sichtbar. Mit einer 5 ml-Plastikspritze wurden 3 ml Blut für die Blutgerinnungsuntersuchungen* und dann mit einer 10 ml-Plastikspritze Blut für die Fettuntersuchung aufgezogen, bis nach dem endgültigen Herzstillstand kein Blut mehr zu gewinnen war.

* Die Gerinnungsuntersuchungen wurden von Herrn cand.med. R. Obst durchgeführt.

3.221 Entblutungstechnik

Die infusionsähnliche Blutentnahme-Armatur wurde aus einem etwa 15 cm langen Polyäthylen-Katheter, an dessen beiden Enden je eine Injektionskanüle angeschlossen war, hergestellt.

Die Ratte wurde narkotisiert und auf einer Holzplatte aufgespannt, der Brustkorb mittels einer Schere vorsichtig eröffnet. Die mit einer Arterienklemme festgehaltene vordere Injektionskanüle wurde im Bereich der rechten Herzkammer eingeführt. Eine zweite Person zog zunächst langsam in einer 5 ml-Spritze 3 ml Citratblut für die Gerinnungsuntersuchungen ab, nach Ersatz der 5 ml-Spritze durch eine von 10 ml Fassungsvermögen wurde bis zum Herzstillstand Blut abgesaugt. Diese Blutgewinnungsmethode hatte folgende Vorteile:

- a) das von der Kanüle durchgestochene Gewebe war auf ein Minimum reduziert, was für Thrombozytenzählung und Blutgerinnung wichtig war;
- b) das für die Serumlipide gewonnene Blut blieb rein von Beimengungen (Haare, Epithelien, Schmutz usw.), die z.B. beim Abschneiden des Kopfes in das Blut gelangen könnten.
- c) Da nur die Spritze in der hinteren Kanüle gewechselt wurde, konnte man das mehrmalige Durchstechen des Herzens vermeiden, so daß man genügend Blut für alle gewünschten Untersuchungen (Gerinnungs- und Fettstoffwechseluntersuchungen) gewann. So war es möglich, den größten Teil des gesamten Blutvolumens des Tieres zu gewinnen.

Das für die Fettuntersuchungen gewonnene Blut wurde unmittelbar nach der Abnahme 20 Minuten bei 3000 U/min zentrifugiert, das überstehende

Serum in ein sauberes Reagenzglas abpipettiert und sogleich bei -20°C bis zur chemischen Untersuchung eingefroren.

Nach Beendigung der Blutentnahme wurden die Versuchstiere sofort seziert und auf makroskopische pathologisch-anatomische Veränderungen untersucht. Von allen Versuchstieren, außer denjenigen, denen nichts oder nur physiologische Kochsalzlösung injiziert worden war, wurden beide Nieren mit Nebennieren, Leber, Lungen und Milz in 4%iger neutraler Formalinlösung zur histologischen Untersuchung aufbewahrt.

3,23 Lipidanalysen

3,231 Chemische Bestimmungen

3,2311 Bestimmung der freien Fettsäuren (FFS)

Die freien Fettsäuren im Serum wurden nach DOLE²¹ und ALBRINK¹ bestimmt.

a) Prinzip:

Nicht veresterte, an Albumin gebundene Fettsäuren (FFS) wurden in einem Einphasensystem extrahiert. Durch Zugabe von Heptan wurde eine Zweiphasenbildung erreicht: die leichte, obere Heptanphase von unpolarem Charakter und die alkoholisch-wässrige polare Phase mit pH 3,5. Die Heptanphase wurde mit Wasser gewaschen.

Die extrahierten Substanzen verteilten sich gemäß Konzentration und Löslichkeitskoeffizienten in diesen beiden Phasen. Die freien Fettsäuren (FFS) wanderten sehr schnell in die Heptanphase, während andere Säuren vorwiegend in der polaren Phase in Lösung gingen. Die Acidität der Heptanphase wurde titrimetrisch bestimmt.

b) Reagenzien:

1) Extraktionslösung:

- 40 Teile Isopropylalkohol p.a.
- 10 Teile n-Heptan
- 1 Teil 1 n Schwefelsäure aus Titrisol

2) Indikatorlösung:

- a) Stammlösung: 0,02%iges wässriges Nilblau, das 6-8mal in n-Hexan gewaschen worden war.
- b) Gebrauchslösung: zum Gebrauch wurde 1 Teil der 0,02%igen wässrigen Stammlösung mit 9 Teilen Äthanol p.a. verdünnt.

3) CO₂-freies H₂O:

Aqua bidest. wurde 15 Minuten gekocht und in einem mit einem Kalkröhrchen verschlossenen Gefäß abgekühlt.

4) Titrationlösung: 0,02 n NaOH.

5) Stearinsäure* (Fluka A.G.)

c) Durchführung:

In 15 ml Schliffzentrifugengläser mit Stopfen kamen 5,0 ml Extraktionslösung, dazu tropfenweise 1,0 ml Serum. Es wurde eine Minute kräftig geschüttelt und dann mindestens 2 Stunden im Kühlschrank stehen gelassen. In der Zwischenzeit wurde in 10 ml-Schliffzentrifugengläser mit Stopfen je 1 ml der Indikatorgebrauchslösung pipettiert.

In dem Extraktionssatz wurde nun durch Einpipetieren von 3 ml Heptan die Phasentrennung erzielt. Nach kurzem Schütteln wurden noch 2 ml CO₂-freies Wasser dazugegeben, dann wurde erneut kräftig geschüttelt.

*Fluka A.G., Buchs SG, Schweiz

Sofort nach Absetzen der Phasen wurden 3 ml der Heptanphase in die vorbereiteten Indikatorgläser überpipettiert. Zur Titration wurde die Ganzglas-mikrometerspritze "Agla"⁽¹⁾ in Kombination mit einer Mikrometerschraube⁽²⁾ benutzt. Die Spritze wurde mit 0,02 n NaOH gefüllt. Das Probeglas fixierte man so, daß die Spitze der auf der Spritze aufgesetzten Kanüle gerade über dem Flüssigkeitspiegel stand. Durch einen dünnen Plastikkathe-ter, 1 mm Durchmesser, wurden die beiden Phasen, die obere Heptanphase und die untere, den Indika-tor enthaltende alkoholische Phase, durch Stick-stoff ineinander suspendiert. Der Stickstoff wur-de zur Adsorption von CO₂ und Wasserdampf durch Ätzkalk, Kalilauge und Glycerin geleitet. Die Titration war beendet, wenn die zunächst blaue Indikatorfarbe nach blaßrosa umgeschlagen war. Dies erkannte man nur, wenn man die Phase immer wieder durch Unterbrechung des N-Stromes absetzen ließ. Um aus dem Laugeverbrauch, gemes-sen in Teilstrichen der Mikrometerskala, die FFS-Konzentration zu berechnen, mußten noch Leer- und Standardwerte titriert werden.

Leerwert:

Statt 1 ml Serum wurde 1 ml H₂O eingesetzt, sonst alles wie oben.

Der Verbrauch an Lauge bei der Titration des Leer-wertes entsprach der Reagenzienazidität und mußte von Standard- und Probewerten abgezogen werden.

(1) Burroughs-Wellcome and Co., London

(2) Shardler, Sheffield

Standard:

284,5 mg Stearinsäure⁽¹⁾ wurden in einer Lösung aus 80 ml Isopropylalkohol p.a. und 20 ml n-Heptan vollständig gelöst. Diese Lösung mit 10 mAeq/l konnte im Kühlschrank bis zu 1 Monat aufbewahrt werden. Für die Bestimmung wurden 2,5 ml dieser Lösung auf 50 ml mit Extraktionslösung aufgefüllt. Diese Lösung enthielt dann 500 μ Aeq. Stearinsäure/l. Zu 4 ml Extraktionslösung wurde 1 ml dieser Lösung tropfenweise zugefügt. Nach kräftigem Schütteln und 2stündigem Stehenlassen wurden nacheinander 3 ml n-Heptan und 3 ml CO₂-freies Wasser hinzupipettiert. Die weitere Arbeitstechnik war der der Proben gleich. Die Berechnung erfolgte nach folgender Gleichung:

$$\frac{\text{Teilstriche der Probe} - \text{Teilstriche des Leerwertes}}{\text{Teilstriche des Standards} - \text{Teilstr. des Leerwertes}} \times 500 =$$

= Wert an freien Fettsäuren (FFS) in μ Aeq/l

3,2312 Bestimmung der Triglyceride

Die Triglyceride wurden mit Hilfe der enzymatischen Methode nach EGGSTEIN und KREUTZ²⁵ untersucht. Die enzymatische Glycerinbestimmung und Neutralfettberechnung nach EGGSTEIN und KREUTZ basiert auf dem enzymatischen Glycerinnachweis nach KREUTZ und der alkalischen Verseifung der Serumfette.

Reaktionen und Hilfsreaktionen verlaufen folgendermaßen:

1. Glycerin + ATP $\xrightarrow{\text{Glycerokinase}}$ Glycerin-1-phosphat + ADP
2. ADP + Phosphoenolpyruvat $\xrightarrow{\text{Pyruvatkinase}}$ ATP + Pyruvat
3. Pyruvat + DPNH + H⁺ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ Lactat + DPN⁺
4. Glycerin + Phosphoenolpyruvat + DPNH + H⁺ $\xrightarrow{\quad}$ L(-)-Glycerin-1-phosphat + Lactat + DPN⁺

(1) Fluka A.G., Buchs SG, Schweiz

Die Umwandlung von Glycerin zu Alpha-Glycerophosphat geht mit der Oxydation von äquimolaren Mengen DPNH einher. Im Gegensatz zu DPNH zeigt DPN keine Absorptionsbande bei 365 nm. Daher kann die Oxydation von DPNH über die Extraktionsabnahme bei 365 nm direkt und bis zum Reaktionsstillstand registriert werden.

Reagenzien:

- I. Triäthanolamin-Puffer 0,1 m, pH = 7,6
(TRA-Puffer)⁽¹⁾
- II. Magnesiumchlorid 0,5 m (Mg^{++})⁽²⁾
- III. Phosphoenolpyruvat, 5×10^{-2} m (PEP)⁽¹⁾ 23 mg in
1 ml Aqua dest. auflösen
- IV. Diphosphopyridinnucleotid⁽¹⁾ (DPNH) + H^+ ,
14 mg werden in 1 ml wässrigem $NaHCO_3$,
1%ig aufgelöst
- V. Adenosintriphosphat⁽¹⁾ (ATP), 10^{-1}
- VI. Pyruvatkinase⁽¹⁾ (PK), 2 mg/ml
- VII. Lactatdehydrogenase⁽¹⁾ (LDH), 5 mg/ml
- VIII. Glycerokinase⁽¹⁾ (GK), 1 mg/ml
- IX. 0,5 n äthanolische KOH⁽²⁾
- X. 2,5 n Perchlorsäure⁽²⁾

Das Reaktionsgemisch, das jeweils vor Gebrauch neu angesetzt werden mußte, enthielt für eine Einzelbestimmung folgende Anteile:

0,481 ml TRA-Puffer (I), 0,01 ml $MgCl_2$ (II), je 0,02 ml PEP (III), DPNH (IV) und ATP (V), 0,01 ml PK (VI), 0,0002 ml LDH (VII).

Durchführung:

- 1. Hydrolyse: Zur Gesamtglycerinbestimmung im Serum wurden zu 1 ml KOH im Mikrozentrifugengefäß⁽³⁾ tropfenweise 0,2 ml Serum gegeben, die Gefäße verschlossen und 20 Minuten lang bei 70°C im Was-

(1) BOEHRINGER/Mannheim

(2) Merck/Darmstadt

(3) Mikrozentrifugengefäß (Fassungsvermögen 1,8 ml, verschließbar aus Plastik) der Fa. Gerätebau EPPENDORF, Hamburg

Mikrozentrifuge der Fa. Gerätebau EPPENDORF, Hamburg

- serbad oder Alu-Block hydrolysiert. Nach Neutralisation mit 0,2 ml Perchlorsäure (X) wurden die Ansätze für 10 Minuten in den Kühlschrank gestellt und dann 1 Minute bei 4000 U/min scharf zentrifugiert (Mikrozentrifuge)⁽¹⁾. Im Überstand, d.h. im Hydrolysat, wurde enzymatisch Glycerin bestimmt.
2. Der optische Test wurde mit 0,1 ml Überstand, 0,5 ml Reaktionsgemisch und 0,4 ml TRA-Puffer durchgeführt. ($\lambda = 365 \text{ nm}$, $d = 10 \text{ mm}$). Zunächst wurde der spontane Extinktionsabfall registriert. Dann wurde durch Zufügen von 0,005 ml Glycerokinase die Reaktion gestartet. Der Extinktionsabfall wurde so lange registriert, bis die Kurve auf dem Schreiber dem spontanen Abfall parallel verlief, und damit das Ende der Reaktion eingetreten war.
3. Zur Bestimmung des freien Glycerins wurde der optische Test direkt mit 0,5 ml Reaktionsgemisch, 0,3 ml Puffer und 0,2 ml Serum ohne vorhergehende Hydrolyse wie bei der Bestimmung des Gesamtglycerins ausgeführt.

Berechnung:

Der spezifische Extinktionsabfall ΔE ist die Differenz aus dem Extinktionsabfall während der Reaktionszeit und dem spontanen (unspezifischen) Abfall über den gleichen Zeitraum.

$$\text{Gesamtglycerin (mg\%)} = \Delta E_{\text{Gesamtglycerin}} \cdot 195,4$$

$$- \text{Freies Glycerin (mg\%)} = \Delta E_{\text{Freies Glycerin}} \cdot 13,95$$

$$= \text{Triglycerid} - \text{Glycerid (mg\%)} \cdot 9,65 = \text{Serumtriglyceride (mg\%)}. \quad \text{---}$$

(1) Mikrozentrifugengefäß (Fassungsvermögen 1,8 ml, verschließbar aus Plastik) der Fa. Gerätebau EPPENDORF, Hamburg
Mikrozentrifuge der Fa. Gerätebau EPPENDORF, Hamburg

3,2313 Bestimmung des Gesamtcholesterins

Das Gesamtcholesterin im Serum wurde nach WATSON¹⁰² bestimmt.

Prinzip:

Cholesterin bildet mit Essigsäureanhydrid und konzentrierter Schwefelsäure blau-grün gefärbte Verbindungen, deren Farbintensität der Cholesterinkonzentration proportional ist und bei 570 nm im Photometer gemessen werden kann.

Reagenzien:⁽¹⁾

1. Cholesterinstandard 200 mg.
2. Cholesterinreagenz: 0,05 M Dimethylbenzolsulfonsäure, 7 M Essigsäure, 66,5 M Essigsäureanhydrid.
3. Konzentrierte Schwefelsäure.

Durchführung:

In trockene Reagenzgläser wurden je 0,1 ml Serum und 2,5 ml Lösung (2) pipettiert. Für den Standard wurde anstelle von Serum 0,1 ml Lösung (1) und für den Leerwert Wasser eingegeben. Nach kurzem Mischen kamen die Gläser für 5 Minuten in kaltes Wasser, dann wurde unter kräftigem Schütteln 0,5 ml konzentrierte Schwefelsäure zugesetzt. Nach 10 Minuten wurden Proben und Standard gegen den Leerwert im Photometer gemessen.

Berechnung:

$$\frac{E \text{ Probe}}{E \text{ Standard}} \cdot 200 = \text{mg\% Cholesterin im Serum}$$

3,2314 Bestimmung der veresterten Fettsäuren:

Die Messung der veresterten Fettsäuren erfolgte kolorimetrisch nach SCHÖN und ZELLER⁸⁶. Die Reagenzien dazu wurden käuflich erworben⁽²⁾.

-
- (1) Biocnemica Test-Combination (Boehringer, Mannheim)
(2) Dr. HAURY, Chemische Fabrik, München

Die Bestimmung der veresterten Fettsäuren im Serum läßt im Zusammenhang mit der Bestimmung des Gesamtcholesterins und der Beta-Lipoproteine eine Abgrenzung der verschiedenen Fettstoffwechselstörungen zu. Man unterscheidet zwischen der Hypercholesterinämie (stark erhöhtes Cholesterin, mäßige Vermehrung der Triglyceride) und der

Hyperlipämie (mäßige oder fehlende Cholesterinvermehrung, stark erhöhte Triglyceride, vorwiegend Retention von Chylomikronen oder von Beta-Lipoproteinen).

Durch die Bestimmung der veresterten Fettsäuren wird eine Erhöhung des Triglyceridspiegels, des Gesamtcholesterins und der Phospholipide im Serum erfaßt.

Prinzip:

Die Fettsäureester wurden extrahiert und mit Hydroxylamin in alkalischer Lösung umgesetzt. Dabei bilden sich in quantitativer Reaktion die entsprechenden Hydroxamsäuren, die mit einer Eisensalzlösung eine rotbraune Farbe geben. Die Intensität dieser Farbe ist der Zahl der Esterbindungen proportional. Ein Trioleinstandard bildet die Bezugsgröße für die Zahl der Esterbindungen.

Reagenzien:

- | | |
|---|--|
| 1. Hydroxylaminhydrochloridlösung 50 ml | } in der Test-
packung ent-
halten |
| 2. Eisen (III)-chlorid-Lösung 50 ml | |
| 3. Trioleinstandard (50 mg%) 30 ml | |
| 4. 10% Natronlauge (10 g NaOH auf 100 ml Wasser) | |
| 5. Isopropylalkohol, wasserfrei | |
| 6. mindestens 3,8 nHCl (38 ml. konz. HCl (36-37%)
auf 100 ml mit Aqua dest. auffüllen) | |
| 7. Aether | |

Durchführung:

1. In ein Reagenz- bzw. Zentrifugenglas wurden 1,9 ml Isopropylalkohol und 0,1 ml Serum pipettiert, gut durchgeschüttelt und 10 Minuten stehengelassen.
2. Zentrifugieren. Vom Zentrifugat wurde 1 ml zur Analyse eingesetzt.
3. 0,5 ml 10% NaOH, 0,5 ml Hydroxylamin HCl, 1,0 ml Zentrifugat wurden gut gemischt und 30 Minuten bei Zimmertemperatur stehengelassen. Nach 30 Minuten wurden noch 0,5 ml 3,7 n HCl, 0,5 ml Eisen (III)-chlorid-Lösung und 0,5 ml Aether dazupipettiert.

Das Ganze wurde gut gemischt und nach 20 Minuten gegen Leerwert am Photometer bei 530 nm gemessen (ELKO II oder III, S 53 E)⁽¹⁾.

Gleichzeitig mit der Analyse wurden auch Standard- und Leerwertproben mitgeführt.

Der Arbeitsvorgang war der gleiche wie bei der Analyse mit dem einzigen Unterschied, daß beim Standard statt Serum 1,0 ml Standard und beim Leerwert 1,0 ml Isopropylalkohol verwendet wurden.

Berechnung:

Extinktion Analyse

Extinktion Standard

$$\times 1000 = \text{mg\% veresterte Fettsäuren bezogen auf Triolein}$$

3,232 Lipidelektrophorese

Die Lipoproteine wurden papierelektrophoretisch nach GROSS und WEICKER³² mit Ölröt O angefärbt⁴³ und mit einem CHROMOSCAN⁽²⁾-Gerät ausgewertet. Angegeben wurde jeweils der Beta-/Alpha-Lipoproteinquotient.

(1) Carl Zeiss, Oberkochen/Württ.

(2) Joyce, Loebl & Company Limited, Gateshead-onTyne, 11, England

GROSS³² und eine Reihe von anderen Autoren haben bald nach der Einführung der Papierelektrophorese von der Möglichkeit zur Trennung von Serumproteinen auf Filterpapier und von der Anfärbbarkeit der Serumlipoproteine mit Fettfarbstoffen Gebrauch gemacht; so konnten die Lipoproteine des Serums verhältnismäßig einfach dargestellt und in ihrer prozentualen Verteilung gemessen werden. Drei Fraktionen ließen sich unterscheiden:

1. Eine schnelle, mit den Alpha-1-Globulinen wandernde,
2. eine mittlere, im Bereich der Alpha-2- und der Beta-Globuline gelegene und
3. eine nicht wandernde, im wesentlichen aus Chylomikronen und Neutralfetten bestehende Fraktion im Gamma-Globulin-Bereich.

DURRUM, PAUL und SCHMIDT²⁴ sowie KROETZ und FISCHER⁵³ unterschieden bei Anwendung der Ölrotfärbung ebenso wie andere Autoren bei Anwendung der Sudanschwartzfärbung nur zwei Fraktionen, die Alpha-1- und die Beta-Lipoproteinfraktion. Der schneller wandernde Teil fand sich im Bereich zwischen den Albuminen und Alpha-1-Globulinen (= Alpha-Lipoproteine), der langsam wandernde Anteil im Bereich der Beta-Globuline (Beta-Lipoproteine).

NIKKILÄ⁷¹ konnte in normalen Humansenen durchschnittlich etwa 1/4 des Plasmacholesterins und etwa ein Drittel der Phosphatide in der Alpha-Lipoproteinfraktion nachweisen.

Die Beta-Lipoproteine enthielten normalerweise 2 Drittel des Plasmacholesterins und die Hälfte der Phosphatide. Rund 25% des gesamten Serumcholesterins fanden sich in der schnellwandernden und 75% in der langsam wandernden Lipoproteinfraktion.

Durchführung:

0,04 ml Serum wurden gleichmäßig (nicht ganz bis zum Rand) auf einen horizontalen Papierelektrophorese-Streifen (Schleicher und Schüll Nr. 2043 A Mgl)⁽¹⁾ aufgetragen.

Die horizontale (nach Bender und Hobein) Elektrophorese wurde 4 Stunden lang bei einer Ausgangsspannung (am Gleichrichter) von 160 Volt laufen gelassen (die Lipoproteine sollten dabei über eine Strecke von ca. 8 cm auseinander gezogen werden). Die Streifen wurden an der Luft getrocknet, dann auf 37°C erwärmt, 16-20 Stunden gefärbt, dann 5 Minuten unter fließendem Leitungswasser abgespült.

Danach wurden die Streifen an der Luft getrocknet und mit einem automatischen Gerät ausgewertet.

Färbebad:

0,5 g Olrot O⁽²⁾ wurden zu 500 ml 95%igem Alkohol gegeben, 15 Minuten stehen gelassen und gelegentlich durchgeschüttelt, dann 500 ml kochendes Wasser dazugegeben und im Wasserbad zum Kochen gebracht. Anschließend ließ man bei 37°C über Nacht langsam abkühlen. Die Farbmischung wurde am nächsten Tag auf 41°C erwärmt und durch einen vorgewärmten Trichter filtriert. Die Farblösung war nach 24 Stunden gebrauchsfertig, nachdem sich ein Lösungsgleichgewicht eingestellt hatte. Die Temperatur war nicht unter 37° abgesunken.

3,24 Statistische Auswertung der Befunde

Zur Beurteilung, ob der Unterschied der Mittelwerte M_1 und M_2 zweier Meßreihen (Versuchsgruppen) von n_1 und n_2 Messungen rein zufällig oder aber "signi-

-
- (1) Von Dr. Bender und Dr. Hobein, Karlsruhe-München-Zürich
(2) Chroma-Ges. Schmidt und Co., Stuttgart-Untertürkheim

fikant" war, wurde der Student-Test^{72, 77} herangezogen. Zunächst wurde die Standardabweichung des Mittelwertes (S_m) der einzelnen Meßgruppen nach folgender Gleichung errechnet:

$$S_m = \pm \sqrt{\frac{S_x^2}{n(n-1)}}$$

M = arithmetisches Mittel aus n Einzelmessungen einer Reihe

x = Differenz aus Einzelmeßwerten und arithmetischem Mittel M .

Nach den Gesetzen der Normalverteilung besagte S_m , daß der wahre Mittelwert, den man bei unendlich vielen Messungen erhalten würde, mit einer Wahrscheinlichkeit von 68,34% innerhalb der Grenzen von $M \pm S_m$ lag.

Nun wurde die Abweichung t von $M_1 \pm S_{m1}$ gegen $M_2 \pm S_{m2}$ ermittelt:

$$t = \pm \sqrt{\frac{M_1 - M_2}{S_{m1}^2 + S_{m2}^2}}$$

Außerdem wurde die Zahl der "Freiheitsgrade" $\underline{m}$ ermittelt:

$$m = n_1 + n_2 - 2$$

Dann wurde in den Spalten der t -Tabelle der zu $\underline{t}$ und $\underline{m}$ zugehörige $2p$ -Wert aufgesucht; $2p$ ist ein Maß für die Wahrscheinlichkeit, daß die Differenz zwischen M_1 und M_2 zufällig besteht. Wenn $2p \leq 0,05$ war, wurde der Unterschied als signifikant bezeichnet.

4,0 Ergebnisse

4,1 Feststellung der Serumlipidkonzentration bei nicht-trächtigen und trächtigen Kontrolltieren

Es wurde davon ausgegangen, daß während der Schwangerschaft ein Anstieg des Serumlipidgehaltes eintritt^(13, 38, 89).

10 weibliche, nichtträchtige Albinoratten mit einem Körpergewicht zwischen 170 und 200 g wurden ohne vorherige Injektion entblutet, das Blut wurde untersucht.

Parallel zu den 10 nichtträchtigen wurde 12 trächtigen Ratten am 20. Trächtigkeitstag morgens 1 ml physiologische Kochsalzlösung intravenös appliziert. 4 Stunden danach wurden die Tiere entblutet, in dem gewonnenen Blut wurde der Serumlipidgehalt ermittelt.

Fettstoffwechsel:

Verglich man die Serumlipide der 2 Gruppen miteinander (Tabelle¹⁺²), so konnte man die Befunde von McKAY und KAUNITZ⁶⁶ bestätigen.

Bei trächtigen Ratten stiegen die veresterten Fettsäuren, freies Glycerin, Triglyceride und freie Fettsäuren signifikant an. Ein Anstieg des Gesamtcholesterins war nicht festzustellen.

4,2 Untersuchungen zur Feststellung der zur Auslösung des SSP bei trächtigen Ratten notwendigen Endotoxindosis

Einer Reihe von trächtigen Ratten wurden am 20. Trächtigkeitstag verschiedene, zwischen 100 und 400 Gamma liegende Dosen E. coli einmalig i.v. appliziert. 4-48 Stunden nach der Endotoxininjektion wurden die Ratten getötet und sogleich pathologisch-anatomisch untersucht. Die Nieren mit Nebennieren, Milz, Leber und Lungen wur-

den histologisch untersucht und nach vorkommenden Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren in SSP-positive und SSP-negative Tiere geteilt.

Nach den gemeinsam mit Herrn Dr. med. G. Müller-Berghaus durchgeführten Untersuchungen waren 400 Gamma Endotoxin die optimale Dosis zur regelmäßigen Auslösung des generalisierten Sanarelli-Shwartzman-Phänomens der trächtigen Ratte.

4,3 Prüfung von 2 Endotoxinchargen aus E. coli 055

4,31 Prüfung des Endotoxins Difco Nr. 1

Am 20. Trächtigkeitstag wurden 23 trächtigen Ratten 400 Gamma Difco Nr. 1-Endotoxin i.v. appliziert. Tiere, die nicht innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Injektion spontan starben, wurden nach der 4. Stunde entblutet, um den Serumlipidgehalt festzustellen. Die Tabellen 3 und 4 zeigen das Verhalten der Serumlipoproteine der einzelnen Tiere 4 Stunden nach der Injektion.

Sowohl die spontan gestorbenen als auch die 4 Stunden nach der Injektion entbluteten Tiere wurden unmittelbar danach seziiert und auf makroskopische pathologisch-anatomische Veränderungen untersucht. Die zur histologischen Untersuchung benötigten Organe wurden in 4%iger neutraler Formalinlösung aufbewahrt. Die in den Tabellen 3 und 4 angegebene Trennung in SSP-positive und SSP-negative Tiere erfolgte aufgrund der histologischen Untersuchung der Nieren durch Herrn Dr. med. G. Müller-Berghaus.

Falls Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren vorhanden waren, wurden die Tiere als SSP-positiv, falls keine Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren vorhanden waren, als SSP-negativ bezeichnet.

4,32 Prüfung des Endotoxins Difco Nr. 2

40 trächtigen Tieren wurden am 20. Trächtigkeits-tag morgens und 6 Stunden später jeweils 3,0 ml/Kilogramm Körpergewicht physiologische Kochsalzlösung injiziert. 1 1/2 Stunden nach der zweiten Injektion wurden den Tieren 400 Gamma Endotoxin, Difco Nr. 2, i.v. appliziert. 4 Stunden nach der Endotoxininjektion wurden die überlebenden Tiere entblutet und der Serumlipidgehalt bestimmt (Tabelle 5 und 6). Die Sektion, histologische Untersuchung und Trennung der SSP-positiven von den SSP-negativen erfolgten wie bei der Gruppe mit Difco Nr. 1-Endotoxin.

Die histologische Untersuchung der Nieren von mit Difco-Endotoxin injizierten Tieren ergab, daß von 23 trächtigen Ratten, denen Difco Nr. 1-Endotoxin injiziert worden war, 11 Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren zeigten; das bedeutet, daß 47,8% ein typisches SSP entwickelten. Von den 40 trächtigen Ratten, denen Difco Nr. 2-Endotoxin injiziert worden war, zeigten 16 das typische Bild eines generalisierten SSP, das entsprach 40%. Die Serumlipoproteine stiegen bei den Tieren, denen Difco Nr. 1-Endotoxin injiziert wurde, sowohl bei den SSP-positiven als auch bei den SSP-negativen Tieren signifikant höher an als bei denen, denen Difco Nr. 2-Endotoxin injiziert worden war.

4,4 Experimente zur Auslösung des generalisierten SSP und zur Feststellung der Serumlipidkonzentrationen bei trächtigen Ratten nach einmaliger E. coli (ET 31)-Injektion

Nachdem die Versuche mit E. coli-Endotoxin, ET 31, das von Herrn PD Dr. Urbaschek nach der BOIVINSchen Methode extrahiert worden war, zeigten, daß mit der gleichen (400 Gamma/Ratte) Dosis eine höhere Prozentzahl der

Tiere ein generalisiertes SSP entwickelte (worauf im folgenden Teil ausführlich eingegangen wird), wurde mit dem nächsten Teil der Arbeit begonnen. Die Untersuchungen konnten in folgende Versuchsreihen eingeteilt werden:

4,41 Versuchsreihe 1: Einmalige Injektion von 400 Gamma ET 31 Endotoxin bei trächtigen Ratten

67 trächtigen Ratten wurden am 20. Trächtigkeitstag morgens und 6 Stunden später jeweils 3,0 ml/kg Körpergewicht physiologische Kochsalzlösung i.v. appliziert. 1 1/2 Stunden nach der zweiten Injektion wurden 400 Gamma/Tier Endotoxin ET 31 i.v. injiziert. 4 Stunden nach der Endotoxininjektion wurden die überlebenden Tiere in Äthernarkose entblutet und das gewonnene Serum bis zur Untersuchung bei -20°C aufbewahrt. Die entbluteten und ebenso die spontan gestorbenen Tiere wurden sofort nach dem Tode seziiert und auf makroskopische pathologisch-anatomische Veränderungen untersucht.

Nieren mit Nebennieren, Leber, Lungen und Milz wurden in 10%iger neutraler Formalinlösung zur histologischen Untersuchung aufbewahrt.

Klinischer Verlauf: Kurze Zeit nach der Endotoxininjektion zeigte ein Teil der Versuchstiere folgende Symptome:

Die Lebhaftigkeit ließ nach. Die Ratten lagen in einer Käfigecke zusammengerollt und atmeten sehr angestrengt (Dyspnoe), Freß- und Trinklust waren bis zur Futter- und Wasserverweigerung herabgesetzt.

Die Körperoberflächentemperatur erschien vermindert, die Tiere fühlten sich kühl an. Die Muskulatur war schlaff.

Die durch solche Symptome gekennzeichneten Tiere starben meist zwischen der 3. und 4. Stunde nach der Endotoxininjektion. Wenn sie die ersten 4 Stunden überlebten, zeigten sie Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren der Nieren. Der Tod trat unter Schmerzäußerung, Krämpfen und Schnappatmung ein.

Der zweite Teil der Versuchstiere dieser Gruppe zeigte außer einer geringeren Mattigkeit keine besonders auffallenden Symptome.

Eintritt des Todes: 2 von 67 Ratten starben bereits 2-3 Stunden, 21 zwischen der 3. und 4. Stunde und 6 genau 4 Stunden nach der Endotoxininjektion. Von den 67 Versuchstieren dieser Gruppe starben also 29 spontan innerhalb der ersten 4 Stunden, das entsprach einer Sterblichkeitsquote von 43,3%. Die übrigen 38 wurden 4 Stunden nach der Endotoxininjektion mit Hilfe der beschriebenen Methode entblutet, das gewonnene Serum für die Serumlipidanalyse verwahrt.

Pathologisch-anatomische Veränderungen: Die Sektionsbefunde der einzelnen Tiere konnten in 3 Gruppen zusammengefaßt dargestellt werden. Die 2 letzten Gruppen wurden mit Hilfe der später durchgeführten histologischen Untersuchung differenziert.

- a) Alle Versuchstiere, die innerhalb der ersten 4 Stunden spontan starben, wiesen eine starke Dilatation des rechten Herzventrikels, ein Lungenödem mit vereinzelt Lungeninfarkten, eine starke Blutstauung in Leber, Milz und an der Schnittfläche der Nieren im Bereich der Nierenrinde auf. Die Mesenteriallymphknoten waren vergrößert und blutig inbibiert. Die Darmwand des Dünndarmkonvolutes war blutig durchtränkt. Das ganze sichtbare venöse Gefäßsystem der inneren Organe war meist prall gefüllt, besonders im Bereich der Ligamenta lata (breite Mutterbänder). Die Feten waren ausnahmslos gestorben.

- b) Tiere, die die Endotoxininjektion 4 Stunden überlebten und nach der Entblutung, wie die später durchgeführte histologische Untersuchung zeigte, Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren (SSP-positiv) aufwiesen, zeigten folgendes Sektionsbild:

Der rechte Herzventrikel war dilatiert, die Lungen wiesen vereinzelte Infarkte und ein Lungenödem auf, die Leber zeigte eine mäßige Blutstauung, ebenso Milz und Nierenrinde, die Venen der Ligamenta lata waren prall gefüllt. Die Feten lebten.

- c) Bei der 3. Gruppe handelte es sich um Tiere, die 4 Stunden überlebten und bei denen auch die histologische Untersuchung negativ verlief, d.h. keine Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren nachweisbar waren (SSP-negativ). Auch alle anderen, oben bei den Gruppen a) und b) genannten Veränderungen fehlten bei der makroskopischen Untersuchung.

Histologische Untersuchung *

Da bei der vorliegenden Arbeit hauptsächlich die Fettstoffwechselveränderungen im Serum trächtiger Ratten nach einer einmaligen Endotoxininjektion dargestellt werden sollten, erschien die histologische Untersuchung der Nieren ausreichend. Anhand der histologischen Untersuchung war die Möglichkeit gegeben, SSP-positive von SSP-negativen Tieren zu trennen, um so die Serumlipoproteine bei beiden Gruppen getrennt betrachten und vergleichen zu können.

* Die histologische Untersuchung wurde freundlicherweise von Herrn Dr. med. G. Müller-Berghaus, Medizinische Universitätsklinik Gießen, durchgeführt, bei dem ich mich auch an dieser Stelle herzlich bedanken möchte.

Von den 67 in dieser Versuchsreihe verwendeten Tieren waren bei 52 (= 77,6%) Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren nachzuweisen.

Betrachtet man die Ergebnisse der mit ET 31, der mit Difco Nr. 1- und der mit Difco Nr. 2-Endotoxin injizierten Tiere, dann stellt man fest, daß diese Endotoxin-Präparationen erhebliche Unterschiede aufwiesen, obwohl alle 3 Chargen des Endotoxins mit der gleichen Methode extrahiert wurden. Den größten Prozentsatz mit 77,6% SSP-positiven Tieren ergab die Versuchsgruppe, die mit ET 31 behandelt wurde, dann folgten mit 47,8% SSP-positive Tiere der mit Difco Nr. 1-Endotoxin und zum Schluß mit 40,0% der mit Difco Nr. 2-Endotoxin behandelten Gruppe.

Möglicherweise war der Verlust an biologischer Wirksamkeit auf das Alter des Endotoxins zurückzuführen, denn das war weiterhin durch folgende Begründung zu bestätigen:

Difco Nr. 1-Endotoxin führte im Jahre 1966 (kurze Zeit nach der Herstellung) bei Versuchen an trächtigen Ratten (Versuche von Herrn Dr. Müller-Berghaus in Amerika) in ca. 90% der Fälle zu einem typischen generalisierten SSP, bei den jetzigen Versuchen dagegen, im Februar - März 1968, nur bei 47,8% der trächtigen Ratten zu einem generalisierten SSP.

Die aber für das klassische SSP des Kaninchens charakteristischen makroskopisch sichtbaren Nierenrindennekrosen konnten nur bei 1 Ratte beobachtet werden.

Fettstoffwechseluntersuchungen

Die Bestimmung der Konzentration des Gesamtcholesterins, der veresterten Fettsäuren, des freien Glycerins, der Triglyceride und der freien Fettsäuren im Serum wurde bei 33 Ratten durchgeführt, die die Endotoxininjektion 4 Stunden überlebten und mit Hilfe der oben beschriebenen Methode entblutet wurden. Bei 5 Tieren wurden keine

Untersuchungen des Serums durchgeführt, obwohl sie 4 Stunden nach der Endotoxininjektion noch lebten, da die Entblutung mißlang.

Verglich man die Serumlipide der trächtigen Ratten, denen Endotoxin gespritzt worden war (Tabellen 7 und 8) mit denen der trächtigen Ratten ohne Endotoxin (Tabelle 2), dann konnte man feststellen, daß sämtliche Lipidwerte der Tiere, deren Serum 4 Stunden nach der Gabe von Endotoxin gewonnen und untersucht worden war, signifikant höher lagen als bei trächtigen Ratten, die kein ET 31 erhalten hatten.

Betrachtete man aber die Serumlipide bei SSP-positiven getrennt von den SSP-negativen Tieren (Tabellen 7 und 8), dann konnte man feststellen, daß der Anstieg der Serumlipide bei beiden Gruppen verschieden war.

Der Anstieg der freien Fettsäuren bei SSP-positiven Tieren war wesentlich stärker als der bei SSP-negativen Tieren. Wenn man den Mittelwert der trächtigen Kontrolltiere ohne Endotoxin als 100% setzte, dann war der Mittelwert der SSP-negativen Tiere = 167,7% und der von SSP-positiven = 260,7%. Der höhere Anstieg der freien Fettsäuren bei SSP-positiven als bei SSP-negativen Tieren war signifikant ($p < 0,001$). Ähnlich verhielten sich auch das Gesamtcholesterin und das freie Glycerin; beide Größen lagen bei SSP-positiven Ratten signifikant über den Werten der SSP-negativen Ratten. Vergleich man dagegen Serumtriglyceride und veresterte Fettsäuren bei SSP-positiven und SSP-negativen Tieren, dann stellte man das Gegenteil fest. Die Neutralfette bzw. Triglyceride lagen bei SSP-negativen Tieren wesentlich höher als bei SSP-positiven Tieren. Der Unterschied war signifikant ($p < 0,001$) (Tabellen 7 und 8).

Bei der papierelektrophoretischen Analyse der Lipoproteine fand sich bei den SSP-positiven Tieren eine ausgeprägte Zunahme der Beta-Lipoproteine und des anodischen Neutralfettrestes gegenüber nichtträchtigen und trächtigen Kontrolltieren (Abb. 1).

Zugleich mit der Zunahme der Beta-Lipoproteine kam es zu einer Abnahme der Alpha-Lipoproteine, wodurch der Beta/Alpha-Lipoproteinquotient erheblich größer wurde als bei den Kontrolltieren. Bei den SSP-negativen Tieren fand sich eine Zunahme der Beta-Lipoproteine und des gesamten, besonders aber des kathodischen, Neutralfettrestes. Die Abnahme der Alpha-Lipoproteinquotienten war dagegen nicht so ausgeprägt wie bei den SSP-positiven Tieren, so daß der Beta-/Alpha-Lipoproteinquotient niedriger lag als bei den SSP-positiven Tieren.

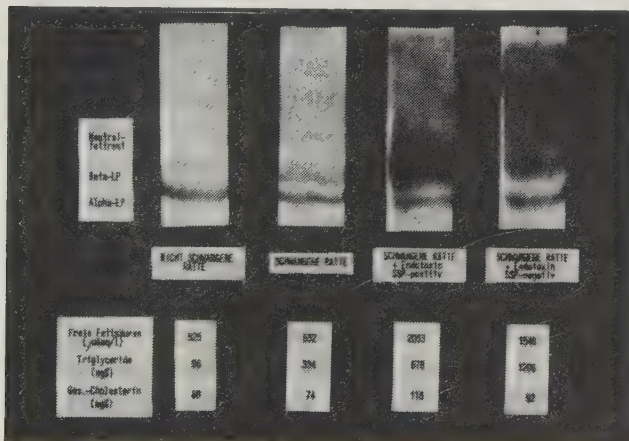


Abb. 1: Die Veränderungen der Lipidelektrophorese vor und während der Trächtigkeit sowie bei Experimenten zur Erzeugung des generalisierten SSP der trächtigen Ratte

4,42 Die Verhinderung des generalisierten SSP der trächtigen Ratte

Versuchsanordnung

Es wurden 4 Untersuchungsreihen gebildet, um den Einfluß von "essentiellen" Phospholipiden (EPL-Nattermann), Vitamin E, Vitamin B₆ und "essentiellen" Phospholipiden ohne Zusatz von Vitaminen (EPL-purosum) auf die Blutlipide im Rahmen des Experimentes zur Erzeugung des generalisierten SSP bei der trächtigen Ratte zu prüfen.

Alle Versuchstiere erhielten unabhängig von der jeweiligen therapeutischen Maßnahme 400 Gamma/Tier E. coli-Endotoxin (ET 31).

4,421 Versuchsreihe 2: mit "essentiellen" Phospholipiden (EPL)

An 16 trächtigen Ratten wurde der Einfluß der "essentiellen" Phospholipide (EPL) auf die Blutlipide während des Experimentes zur Erzeugung des generalisierten SSP untersucht. Die Tiere erhielten am 20. Trächtigkeitstag morgens und 6 Stunden später jeweils 6 ml/Kilogramm Körpergewicht EPL i.v. appliziert. 1 1/2 Stunden nach der zweiten EPL-Injektion wurden 400 Gamma ET 31 (E. coli-Endotoxin) i.v. verabreicht. Gleichzeitig mit den 16 Therapietieren wurden 38 trächtigen Ratten in den gleichen Zeitabständen zweimal jeweils 3,0 ml/Kilogramm Körpergewicht physiologische Kochsalzlösung und 1 1/2 Stunden nach der zweiten NaCl-Injektion 400 Gamma E. coli-Endotoxin i.v. appliziert.

Tiere, die 4 Stunden nach der Endotoxininjektion noch am Leben waren, wurden mit der üblichen Methode entblutet.

Der klinische Verlauf und das Sektionsbild der Versuchstiere, die vor der Endotoxininjektion zweimal physiologische NaCl-Lösung injiziert bekommen hatten, ähnelten denjenigen der Versuchsreihe 1 mit ET 31-Endotoxin. 2 der 38 Tiere starben zwischen der 2. und 3. Stunde, 16 zwischen der 3. und 4. Stunde und 5 4 Stunden nach der Endotoxinapplikation.

Die 16 Tiere, die mit EPL vorbehandelt wurden, überlebten alle die Endotoxininjektion 4 Stunden. Klinisch zeigten sie ausnahmslos: Futter- und Wasserverweigerung und eine gewisse Unlust. Die meisten Tiere zeigten diese Unlust schon vor der Endotoxininjektion. Die Sektion hatte ebenso wie die histologische Untersuchung ein Ergebnis, das demjenigen ohne EPL-Vorbehandlung weitgehend ähnlich war. Der einzige Unterschied bestand darin, daß das Lungenödem der behandelten Tiere stärker war als das der nicht behandelten.

Die histologische Untersuchung der Nieren zeigte, daß 35 der 38 unbehandelten Ratten Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren aufwiesen, daß also 89,5% der Versuchstiere ein typisches SSP entwickelten.

Von den 16 Versuchstieren, die vor der Endotoxinapplikation mit EPL vorbehandelt wurden, wiesen 13 Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren auf, das sind 81,3% der Versuchstiere.

Die Ausbildung eines SSP konnte also nicht durch EPL-Therapie verhindert werden.

Fettstoffwechseluntersuchungen

Von den unbehandelten Tieren wurde das Serum bei 13 Tieren untersucht, die 4 Stunden überlebt hatten, von den mit EPL-vorbehandelten Tieren wurde das Serum bei allen 16 Ratten untersucht. Trennte

man die behandelten Tiere in 2 Gruppen, je nachdem, ob sich bei der histologischen Untersuchung das Bild eines SSP nachweisen oder nicht nachweisen ließ, und verglich man die Serumlipidkonzentrationen der beiden Gruppen (Tabellen 9, 9a und 10), d.h. die Serumlipide der unbehandelten mit denen der behandelten SSP-positiven Tiere sowie die Serumlipide der unbehandelten mit denen der behandelten SSP-negativen Tiere, dann konnte folgendes festgestellt werden:

- a) Die FFS im Serum der SSP-positiven Tiere lagen bei den mit EPL behandelten signifikant niedriger als bei den nicht behandelten Tieren. Das freie Glycerin stieg bei den EPL-behandelten Tieren ebenfalls deutlich weniger als bei den unbehandelten Tieren mit positivem SSP. Der Triglyceridgehalt lag etwa auf gleicher Höhe, der Serumcholesteringehalt und die veresterten Fettsäuren stiegen dagegen stärker an als bei den nicht behandelten Tieren.
- b) Bei den SSP-negativen Tieren mit und ohne EPL-Behandlung bestand kaum ein Unterschied der FFS im Serum bei beiden Gruppen. Die Serumtriglyceride der mit EPL behandelten Tiere stiegen dagegen weniger an als bei den unbehandelten Tieren. Das Cholesterin und die veresterten Fettsäuren stiegen wie bei den SSP-positiven Tieren stark an.

4,422 Versuchsreihe 3: mit Vitamin E

An 26 trächtigen Ratten wurde der Einfluß von Vitamin E (Ephynal[®] Roche) auf die Blutlipide während des Experiments zur Erzeugung des generalisierten SSP untersucht.

Den Tieren wurden am 20. Trächtigkeitstag in den gleichen Zeitabständen, wie in der Versuchsreihe 2, zweimal jeweils 1,6 mg/Kilogramm Körpergewicht Vita-

min E in einer Verdünnung von 1:200 i.v. injiziert. Das Verdünnungsmittel war sterile physiologische Kochsalzlösung. 1 1/2 Stunden nach der zweiten Injektion wurden 400 Gamma ET 31-Endotoxin appliziert.

Gleichzeitig erhielt eine Gruppe von 46 Tieren statt Vitamin E zweimal physiologische Kochsalzlösung appliziert und danach ebenfalls 400 Gamma Endotoxin.

Tiere, die sich 4 Stunden nach der Endotoxininjektion noch am Leben befanden, wurden mit der üblichen Methode entblutet.

Der klinische Verlauf und das Sektionsbild der nicht mit Vitamin E behandelten Tiere waren denjenigen der Versuchsreihe 1 ähnlich.

2 der 46 unbehandelten Tiere starben zwischen der 2. und 3. Stunde, 18 zwischen der 3. und 4. Stunde und 3 direkt in der 4. Stunde nach der Endotoxinapplikation. Das entsprach einer Sterblichkeitsquote von ca. 50%.

Von den 26 mit Vitamin E behandelten Versuchstieren starben 1 zwischen der 2. und 3. Stunde und 7 zwischen der 3. und 4. Stunde nach der Endotoxinapplikation, das entsprach einer Sterblichkeitsquote von 30,7%.

Die klinischen Symptome der mit Vitamin E vorbehandelten Ratten ähnelten denjenigen der mit EPL vorbehandelten. Der Tod trat wie bei den unbehandelten Tieren, d.h. unter Schmerzáußerung, Krämpfen und Schnappatmung, ein. Die Sektion ergab etwa das gleiche Bild wie bei den unbehandelten Tieren.

Die histologische Untersuchung der Nieren ergab bei 16 der mit Vitamin E behandelten Ratten Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren, d.h. daß 61,5% der mit Vitamin E behandelten Tiere ein SSP entwickelten. Von den 46 unbehandelten Ratten entwickelten dagegen 39 ein SSP, d.h. 84,8%.

Fettstoffwechseluntersuchungen

Verglich man die Serumlipide der mit Vitamin E behandelten und nicht behandelten Ratten, und zwar wieder die Versuchstiere, die ein SSP entwickelten, getrennt von denen, die keine Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren aufwiesen (Tabellen 11 und 12), dann war festzustellen, daß die veresterten Fettsäuren und die Triglyceride bei den SSP-positiven Tieren mit Vitamin E-Behandlung höher lagen als bei den unbehandelten. Die freien Fettsäuren der mit Vitamin E behandelten Tiere lagen signifikant niedriger als diejenigen der unbehandelten Tiere.

Bei den SSP-negativen Ratten fand sich lediglich ein signifikant höherer Anstieg der veresterten Fettsäuren bei den mit Vitamin E behandelten Versuchstieren als bei den unbehandelten Tieren; die übrigen Serumlipidarten der SSP-negativen Tiere wiesen keine eindeutigen Unterschiede auf.

4,423 Versuchsreihe 4: mit Vitamin B₆

An 17 trächtigen Ratten wurde der Einfluß von Vitamin B₆ (Benadon^R - Roche) = (Pyridoxanhydrochlorid) auf die Blutlipide während des Experimentes zur Erzeugung des generalisierten SSP untersucht. Die Ratten wurden am 20. Trächtigkeitstag in den üblichen Zeitabständen, 7 1/2 und 1 1/2 Stunden vor der Endotoxinapplikation, mit jeweils 3,0 mg/Kilogramm Körpergewicht Vitamin B₆ i.v., in einer Verdünnung 1:100 mit physiologischer Kochsalzlösung, vorbehandelt.

4 Stunden nach der Endotoxinapplikation wurden die, die sich noch am Leben befanden, entblutet. Die Serumlipidkonzentrationen wurden wie vorher untersucht.

Parallel zu den 17 Tieren, die mit Vitamin B₆ vorbehandelt wurden, wurden 20 trächtigen Ratten statt Vitamin B₆ zweimal jeweils 3,0 ml/Kilogramm Körpergewicht physiologische Kochsalzlösung und anschließend

400 Gamma ET 31-Endotoxin i.v. verabreicht. Die Injektionszeiten stimmten mit denen bei der Behandlung mit Vitamin B₆ überein.

Der klinische Verlauf und das Sektionsbild der unbehandelten Versuchstiere glichen denjenigen der unbehandelten Tiere der 2 vorangegangenen Gruppen. Von 20 Ratten starben 3 (= 15%) zwischen der 3. und 4. Stunde nach der Endotoxininjektion.

Von den 17 mit Vitamin B₆ behandelten starben ebenfalls 3 (= 17,6%) zwischen der 3. und 4. Stunde.

Der klinische Verlauf der behandelten Tiere glich im übrigen dem der mit Vitamin E vorbehandelten. Die 3 Ratten, die vorzeitig starben, zeigten die gleichen Symptome wie die unbehandelten Tiere.

Der klinische Verlauf und der Todeseintritt der unbehandelten Versuchstiere ähnelten denen der Versuchsreihe 1.

Die histologische Untersuchung der Nieren ergab bei 12 (= 60%) der unbehandelten und 5 (= 29%) der behandelten Tiere Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren.

Fettstoffwechseluntersuchungen

Verglich man die Serumlipide der SSP-negativen Versuchstiere mit und ohne Vitamin B₆-Vorbehandlung miteinander (Tabelle 13), dann war außer einem etwas geringeren Anstieg des freien Glycerins bei den behandelten Tieren nichts besonderes festzustellen. Die Serumlipide der behandelten Tiere stiegen fast genauso hoch an wie bei den nicht behandelten Tieren.

Ein Vergleich der Serumlipide der SSP-positiven Tiere mit und ohne Vitamin B₆-Behandlung konnte nicht durchgeführt werden, da es nur bei einem der behandelten Tiere gelang, Blut zu gewinnen.

4,424 Versuchsreihe 5: mit EPL-purosum

16 trächtigen Ratten wurden am 20. Trächtigkeitstag zweimal jeweils 6 ml/Kilogramm Körpergewicht EPL-purosum i.v. und nach der zweiten Injektion 400 Gamma Endotoxin appliziert.

Gleichzeitig erhielten wieder 20 Tiere, wie bei den vorangegangenen Versuchsreihen, statt des Behandlungsmittels zweimal physiologische NaCl-Lösung und einmal 400 Gamma Endotoxin i.v. injiziert. Die Zeitabstände zwischen den einzelnen Injektionen stimmten mit denen der anderen Versuchsreihen überein. Der klinische Verlauf und das Sektionsbild der unbehandelten Tiere waren denen der vorangegangenen Gruppen ähnlich.

Diejenigen Tiere aber, die vor der ET-Applikation mit EPL-purosum behandelt worden waren, zeigten schon kurze Zeit nach der ersten EPL-purosum-Injektion ein schlechtes Allgemeinbefinden; sie rollten sich in einer Ecke des Käfigs zusammen und mieden sowohl das Futter als auch das Wasser; sie zeigten besonders nach der zweiten EPL-Injektion und später nach der Endotoxininjektion eine deutliche Dyspnoe.

Etwa 3 Stunden nach der Endotoxingabe sank offenbar die Körperoberflächentemperatur. 3 (= 18,7%) der 16 Tiere starben zwischen der 3. und 4. Stunde nach der Endotoxininjektion. Von den 20 unbehandelten starben 3 (= 15%) zwischen der 3. und 4. Stunde.

Die histologische Untersuchung der Nieren zeigte, daß alle behandelten Tiere Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren aufwiesen. Von den unbehandelten Tieren wiesen dagegen nur 12 von 20 Fibrinthromben auf, das entspricht 60%.

Fettstoffwechseluntersuchungen

Verglich man die Serumlipide der mit EPL-purosum behandelten und der nicht behandelten Tiere, die ein typisches SSP entwickelten, dann konnte man feststellen, daß das freie Glycerin und die freien Fettsäuren nur halb so hoch wie bei den unbehandelten Tieren anstiegen und daß das Gesamtcholesterin und die Triglyceride bei den behandelten Tieren höher anstiegen als bei den unbehandelten. Die veresterten Fettsäuren verhielten sich bei behandelten Tieren nicht eindeutig verschieden (Tabelle 14).

4,43 Versuchsreihe 6: Einfluß der "essentiellen" Phospholipide auf die Trächtigkeitslipidämie

Um den Einfluß der "essentiellen" Phospholipide auf die Blutlipide der trächtigen Ratte, unabhängig von der Endotoxinwirkung, festzustellen, wurden 7 trächtigen Ratten am 20. Trächtigkeitstag morgens und 6 Stunden später jeweils 6 ml/Kilogramm Körpergewicht EPL-Nattermann i.v. appliziert.

Um die Zeiten einzuhalten, die sonst bei den Behandlungsversuchen üblich waren, wurden die Ratten 1 1/2 Stunden nach der zweiten Injektion kurz in eine Äthernarkose gelegt und ohne ET-Injektion nach 4 Stunden mit der üblichen Methode entblutet. Die Versuchstiere zeigten klinisch außer einer gewissen Unlust keine besonderen Symptome. Die Sektion unmittelbar nach dem Entbluten ergab ein leichtes Lungenödem und eine geringe gelbliche Verfärbung der Leber.

Fettstoffwechseluntersuchungen

Verglich man die Serumlipide der mit EPL-behandelten Ratten mit denjenigen von trächtigen Ratten, die außer 1 ml physiologische Kochsalzlösung nichts weiter injiziert erhalten hatten (Tabelle 16), dann stellte man fest, daß das Cholesterin, die veresterten Fettsäuren und die freien Fettsäuren bei den EPL-Tieren signifikant höher angestiegen waren als bei den mit physiologischer Kochsalzlösung behandelten Tieren. Das freie Glycerin und die Triglyceride blieben fast unverändert.

4,44 Versuchsreihe 7: Einfluß des Endotoxins bei einmaliger i.v. Injektion auf die Serumlipide von nichtträchtigen Ratten

Um festzustellen, welchen Einfluß Endotoxin bei nicht-trächtigen Ratten in bezug auf die Blutlipide hatte, wurden 16 nichtträchtigen Ratten einmalig 400 Gamma ET 31-Endotoxin i.v. appliziert. 13 Tiere wurden 4 Stunden nach der Endotoxinapplikation entblutet; die Serumlipide wurden wie üblich untersucht. 3 Tiere blieben 24 Stunden nach der Endotoxinapplikation am Leben; erst dann wurden sie getötet und für die Serumuntersuchungen entblutet.

Die in dieser Versuchsgruppe aufgenommenen Ratten hatten ein Körpergewicht von 170-200 g.

Alle Versuchstiere zeigten nach der Endotoxinapplikation außer einer leichten Minderung ihrer Lebhaftigkeit keine besonders auffallenden klinischen Symptome.

Die Sektion unmittelbar nach dem Entbluten ergab keinen besonderen pathologischen Befund.

Bei der histologischen Untersuchung waren bei keinem der 16 Versuchstiere Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren festzustellen.

Fettstoffwechseluntersuchungen

Die Serumlipide verhielten sich bei den nichtträchtigen Ratten 4 Stunden nach Endotoxingaben anders als bei trächtigen Ratten.

4 Stunden nach der Endotoxininjektion konnten ein signifikanter Abfall des Cholesterins und der Triglyceride und ein signifikanter Anstieg der freien Fettsäuren gegenüber nichtträchtigen Ratten, die kein ET 31 erhalten hatten, festgestellt werden (Tabelle 16).

Verglich man die Serumlipide der Versuchstiere, die erst 24 Stunden nach der Endotoxininjektion entblutet wurden (Tabelle 17) mit denen der nichtträchtigen Kontrolltiere, dann konnte ein weiterer Abfall des Cholesterin- und Triglyceridspiegels und fast eine Normalisierung des freien Glycerins verzeichnet werden. Die veresterten Fettsäuren fielen auf 37% des Ausgangswertes herab. Die freien Fettsäuren lagen immer noch signifikant höher als bei nichtträchtigen Ratten ohne Endotoxin. Im Vergleich zu dem Vierstundenwert nach Endotoxin waren sie um ca. 50% abgefallen.

5,0 Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen bestätigten, daß die Konzentration der Lipoproteine im Serum bei trächtigen Ratten signifikant höher lag als bei nichtträchtigen Ratten. Daß die Serumlipide in der Schwangerschaft ansteigen, ist seit langem bekannt^{13, 38, 89}. Man nimmt heute an, daß die Schwangerschaftshyperlipidämie eine Transporthyperlipidämie ist, die den erhöhten Anforderungen an die peripheren Fettdepots der Mutter bei der Fettzufuhr zu den Feten und bei der Entwicklung der Milchdrüse gerecht wird⁷⁶. Denn es kommt zur geschilderten Vermehrung der Serumlipide, obwohl in der Schwangerschaft Ovarien, NNR und Schilddrüse hyperaktiv sind.

McKAY und KAUNITZ⁶⁶ bewiesen 1963 mit Rattenversuchen, daß die Trächtigkeit zu einer Mobilisierung des Depotfettes führt. Sie fanden nämlich bei trächtigen Ratten eine Erhöhung der Gesamtlipide, der Phospholipide, der Triglyceride, der FFS und des Cholesterins im Serum, ferner eine Erhöhung des Fettgehaltes der Leber und Nieren, dagegen aber eine Verminderung des Depotfettes. Sie konnten weiter beweisen, daß die Trächtigkeit zu einer gesteigerten Lipogenese aus dem Acetat-pool führt.

PEZOLD⁷⁶ nahm darüber hinaus einen Faktor an, der unmittelbar zur Überproduktion von Lipoproteinen führt.

Die histologische Untersuchung der Nieren von trächtigen Ratten, die am 20. Trächtigkeitstag einmal mit einer der 3 hier verwendeten Endotoxinchargen gespritzt wurden, bewies, daß die Häufigkeit der Auslösung des generalisierten SSP bei trächtigen Ratten von Art und Dosis des Endotoxins abhängt. Die Abhängigkeit von der Endotoxindosis wurde schon von MÜLLER-BERGHHAUS et al.⁶⁷ und WONG¹⁰⁹ beschrieben. Die nachlassende Wirkung der gleichen Endotoxincharge im Laufe von Monaten sprach dafür, daß ein Wirk-

samkeitsverlust des Endotoxins bei der Lagerung eintritt. MÜLLER-BERGHAUS führte mit demselben Difco Nr. 1-Endotoxin 1966 Versuche bei trächtigen Ratten aus, die in etwa 90% zur Entwicklung eines SSP führten. Bei den hier beschriebenen Versuchen mit demselben Endotoxin entwickelte sich das Phänomen nur bei 47,8% der injizierten Tiere.

Die Ergebnisse mit ET 31- (dem von Urbaschek extrahierten) Endotoxin, zeigten, daß die 400 Gamma/Tier-Dosis dieses Endotoxins etwa der LD₅₀ entsprach. Von 52 injizierten Tieren starben 30 spontan innerhalb von 4 Stunden. Außer bei 2 Versuchstieren, die zwischen der 2. und 3. Stunde nach der Endotoxininjektion starben, erfolgte der Tod zwischen der 3. und 4. Stunde nach der Injektion. In diesem Zusammenhang ist zu sagen, daß ZWEIFACH und THOMAS¹¹¹ darauf hingewiesen hatten, daß sich der hypotensive Effekt der letalen Endotoxindosis bei Ratten erst 3-4 Stunden nach der Endotoxingabe entwickelt. Diese Zeit schien die kritische Zeit für den Endotoxinschock der Ratte zu sein. Die meisten Todesfälle traten in dieser Zeit auf.

Bei 40-77,6% der Versuchstiere, denen am 20. Trächtigkeitstag einmal Endotoxin gespritzt wurde (wobei 77,6% SSP-positive unter den Ratten festgestellt wurden, denen ET 31-Endotoxin injiziert worden war), fanden sich Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren. Das Fibrin war bereits 3 Stunden nach der i.v. Injektion des Endotoxins zu finden. Ähnliche Beobachtungen machte auch WONG¹⁰⁹. GRONVALL und BRUNSON³¹ berichteten, daß Ratten nach intraperitonealer Injektion von Endotoxin und Natriumpolyanetholsulfonat (Liquoid/Roche) frühestens 6-8 Stunden nach der Injektion Fibrinablagerungen aufwiesen. Diese zeitliche Differenz gegenüber den Befunden bei alleiniger Endotoxingabe beruht vielleicht darauf, daß das Endotoxin einmal i.v. und einmal intraperitoneal verabreicht wurde.

Bei der Sektion wurden makroskopisch sichtbare Nierenrindennekrosen, die bei Auslösung des klassischen SSP bei Kaninchen mit großer Regelmäßigkeit nachweisbar sind, außer bei einem Tier völlig vermißt. Bei dem genannten Fall wurde die Ratte erst 46 Stunden nach der Injektion von 300 Gamma ET 31-Endotoxin getötet. Das Ausbleiben der makroskopisch sichtbaren Nierenrindennekrosen könnte man bei der vorliegenden Versuchsanordnung also darauf zurückführen, daß nicht genügend Zeit zur Ausbildung der Nierenrindennekrosen vorhanden war. Denn fast alle Versuchstiere wurden 4 Stunden nach der Endotoxininjektion getötet, wenn sie nicht vorher spontan gestorben waren.

Allerdings berichteten andere Autoren⁶⁸, daß auch bei Versuchen, bei denen die trächtigen Ratten lange genug nach der Endotoxininjektion am Leben erhalten wurden, nicht so oft makroskopische Nierenrindennekrosen vorhanden waren, wie das bei Kaninchen der Fall ist, obwohl nach dem Tod histologisch Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren nachweisbar waren.

MÜLLER-BERGHAUS⁶⁸ erklärte das Fehlen von makroskopisch erkennbaren Nierenrindennekrosen mit den besonderen anatomischen Verhältnissen des Cortex der Rattenniere und weniger mit dem Ausmaß der Fibrinablagerungen, denn histologische Untersuchungen von Rattennieren zeigten fast in jedem Glomerulum Fibrinablagerungen.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigten, daß es bei Applikation von E. coli-Endotoxin bei trächtigen Ratten zu erheblichen Veränderungen der Blutlipide bzw. Serumlipoproteine kam, die über diejenigen der Gravidität weit hinausgingen. Die Serumlipide stiegen innerhalb der ersten 4 Stunden nach Endotoxin sowohl bei Tieren, die ein SSP entwickelten als auch bei den Tieren, die kein SSP bekommen hatten, im Vergleich zu trächtigen Kontrolltieren signifikant an.

Verglich man aber die Serumlipide der trächtigen Tiere, die nach Endotoxinein SSP ausbildeten mit denen, die keine Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren zeigten, dann stellte man fest, daß signifikante Unterschiede zwischen beiden Gruppen bestanden. Das Gesamtcholesterin, das freie Glycerin und die freien Fettsäuren stiegen bei den SSP-positiven Ratten signifikant höher an als bei SSP-negativen. Entgegengesetzt verhielten sich die Werte von Triglyceriden und veresterten Fettsäuren. Sie stiegen bei SSP-negativen Tieren signifikant höher als bei SSP-positiven Tieren an. Sehr intensiv war auch die Vermehrung der Beta-Lipoproteine bei trächtigen Ratten nach der Endotoxininjektion. Vergleich man wieder die Lipidelektrophoresen der SSP-positiven mit den Lipidelektrophoresen der SSP-negativen Tiere, dann fand sich bei den SSP-negativen Tieren die Vermehrung der Lipoproteine mehr kathodisch, d.h. zum größten Teil im Bereich der Chylomikronen.

Die Grundzüge der Regulation bzw. Steuerung des Fettstoffwechsels stellte CARLSON¹⁶ folgendermaßen dar: Durch verschiedene humorale und nervale Reize werden die Neutralfette des Depotfetts mittels eines Systems von Esterasen in freie Fettsäuren (FFS) und Glycerin gespalten. Beide Substrate gelangen sofort in die Blutbahn, wo die FFS in lockerer Bindung an Albumine transportiert werden. Von dort werden die FFS schnell von Herz, Skelettmuskulatur und Leber eliminiert. Ein Teil wird vom Fettgewebe wieder aufgenommen und rückverestert. Freie Fettsäuren werden in der Leber nicht nur abgebaut, sondern ein Teil wird zu Lebertriglyceriden umgesetzt und nach einigen Stunden als Lipoprotein oder Plasmatriglycerid in die Blutbahn wieder abgegeben. Die Lipoproteine können wieder durch Lipoproteinlipasen aufgespalten werden.

Die Höhe des FFS-Spiegels im Plasma ergibt sich aus der Bilanz der Freisetzung aus den Depots und der Eliminierung durch die Verbrauchsorgane. Deshalb kann ein Anstieg der FFS im Plasma mannigfache Gründe haben. Wichtige Ursachen der FFS-Freisetzung sind u.a. Glukosemangel, die Zufuhr von Schilddrüsen- oder Wachstumshormonen, von ACTH, Corticosteroiden und vor allem Katecholaminen^(9, 107), denn das Fettgewebe verhält sich wie ein sympathisch innerviertes Organ (WESTERMANN¹⁰⁸). 1956 konnten DOLE²¹ sowie GORDON und CHERKES²⁹ nachweisen, daß unter der Wirkung von Adrenalin Triglyceride hydrolytisch gespalten wurden, so daß die Konzentration der freien Fettsäuren im Blut anstieg.

CARLSON und Mitarb.¹⁶ fanden nach Infusion von Adrenalin (1 Gamma/kg und Minute über 8 Stunden beim Hund) einen sofortigen Anstieg der FFS, nach Ende der Katecholamininfusion eine erhebliche Vermehrung der Lebertriglyceride und nach 15-20 Stunden einen Anstieg der triglyceridreichen Lipoproteine im Blut auf das 2-3fache des Ausgangswertes.

WESTERMANN und STOCK¹⁰⁸ injizierten Ratten 0,5 mg/Kilogramm Körpergewicht Adrenalin oder Noradrenalin s.c. und untersuchten zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion das Plasma auf FFS, Glycerin und Glukose. Sie fanden, daß Adrenalin oder Noradrenalin die Triglyceridlipase des Fettgewebes so stark aktivierten, daß der Gehalt des Plasmas an FFS nach 60 Minuten um maximal 100% zunahm und gleichzeitig der Glycerinspiegel anstieg. Der Blutzuckerspiegel nahm auch zu.

Bei Versuchen mit ACTH fanden sie eine Erhöhung des Fettsäurespiegels im Plasma auf fast das Dreifache des Ausgangswertes, aber ACTH hatte keinen Einfluß auf den Blutzuckerspiegel. Sie fanden weiterhin, daß der Fettsäurespiegel des Blutes der Ratte in Stress-Situationen überwiegend nerval-noradrenergisch gesteuert wird.

Andererseits ist aber bekannt, daß es nach der Injektion von Endotoxin zu einem stetigen Anstieg der Katecholamine im Blut kommt. SPINK und Mitarb.⁹⁵ fanden beim Hund 90 Sekunden nach i.v. Applikation von Coli-Endotoxin einen Anstieg des Plasma-Adrenalins auf das 7fache des Ausgangswertes. Der erhöhte Katecholaminspiegel war in Abhängigkeit von der Endotoxindosis 1-4 Stunden lang nachweisbar. Deshalb erschien es richtig anzunehmen, daß die Lipolyse, d.h. die Freisetzung von FFS in Fettgewebe bzw. der Anstieg der Serumlipide, nicht direkt auf das Endotoxin zurückzuführen war, sondern durch Sympathikuserregung mit Katecholaminausschüttung hervorgerufen wurde. HUTH⁵ und KARLICEK⁴⁶ behandelten, ausgehend von der Frage, ob ein vermehrter Tonus des sympathischen Nervensystems die Ursache des Anstiegs der FFS und der Hyperlipoproteinämie nach Endotoxin war, Kaninchen mit Reserpin vor und während des Versuches, das generalisierte SSP auszulösen. Trotz der zweimaligen i.v. Injektion von Endotoxin blieben die Mittelwerte der FFS signifikant unter denjenigen bei einem typischen SSP. Der Anstieg der Triglyceride blieb aus, Cholesterin nahm unter der Reserpinmedikation trotz der zweimaligen Endotoxingabe nur geringgradig zu. Reserpin hemmt die vegetativen Zentren des ZNS und führt darüber hinaus zu einer Entspeicherung von Katecholaminen aus den sympathischen Granula der postganglionären Nervenendigungen. Durch Reserpin wird der Gehalt des ZNS an Noradrenalin vermindert, gleichzeitig nimmt der Noradrenalinbehalt der Gewebe in der Peripherie ab^(110, 54a). HUTH und KARLICEK⁴² bewiesen durch die Behandlung mit Antisymphathikotonika, daß die Serumlipidveränderungen bei Kaninchen nach Endotoxin neural und humoral ausgelöst wurden, und daß die Ursache der Lipidveränderungen in einer Aktivierung von Sympathikus und Nebennierenmark zu suchen war. Ferner zeigten sie, daß die Hyperlipämie

nach Endotoxin eine Folge der Mobilisation von freien Fettsäuren, wahrscheinlich vorwiegend aus den Fettpdepots, war und nicht der Ausdruck eines verminderten Umsatzes bzw. Abstroms der Neutralfette aus dem Blut.

Die Wanderungsbeschleunigung der Lipoprotein-Fraktionen bei Kaninchen, die zur Auslösung des SSP dienten, führte HUTH³⁹ auf die erhebliche Zunahme der FFS, deren Kopplung mit den Lipoproteinen und die dadurch verursachte Ladungsvermehrung dieser Fraktionen zurück. Möglicherweise war der Anstieg der FFS und Serumlipide nach Endotoxin bei trächtigen Ratten ebenfalls die Folge einer vermehrten Lipolyse des Depotfettes und Ausdruck einer konsekutiven Transporthyperlipämie.

Versucht man eine Erklärung für das unterschiedliche Verhalten der Serumlipide bei SSP-positiven und SSP-negativen Tieren zu geben, so kann man folgende Gesichtspunkte diskutieren.

Im Hinblick auf die Beziehung von Endotoxin und Fettstoffwechsel ist es bemerkenswert, daß die Entgiftung des Endotoxins in der Leber durch Oxydation der Fettsäurereste des Endotoxin-Lipopolysaccharidmoleküles erfolgte (FARRAR et al.²⁷). Die Leber ist also nicht nur für die Lipoprotein-Synthese sondern auch für die Endotoxinentgiftung von zentraler Bedeutung.

Wir wissen aber¹⁶, daß die durch Spaltung der Neutralfette des Depotfettes frei gewordenen freien Fettsäuren und das Glycerin sofort in die Blutbahn gelangen. Das Glycerin kann nach der Aktivierung in Leber, Herz und Nieren verbrannt oder in der Leber erneut zur Triglyceridsynthese verwendet werden. Die in die Blutbahn gelangten FFS können unmittelbar von den Geweben, insbesondere von Herz- und Skelettmuskulatur, verbrannt werden, oder sie werden in der Leber zu Triglyceriden, Cholesterin, Phospholipiden bzw. Lipoproteinen wieder aufgebaut. Anschließend gelangen sie in Form der Lipoproteine in das Blut.

Die Leber wird durch das Endotoxin stark geschädigt, was besonders bei den Tieren zu erwarten war, die ein SSP entwickelten. KAUNITZ und McKAY⁴⁷ hatten gezeigt, daß es sogar bei trächtigen Ratten, die ein SSP nach einer besonderen Diät entwickelten, zu einer Leberschädigung kam. Die Leber kann dann ihre Funktionen nicht mehr ausreichend ausüben. Sie ist nicht mehr in der Lage, in normaler Weise Lipoproteine zu synthetisieren und in die Blutbahn abzugeben. Ist dagegen die Leberschädigung nicht so stark ausgeprägt, wie das bei SSP-negativen Tieren der Fall ist, dann gelangen mehr Triglyceride, veresterte Fettsäuren und Lipoproteine in die Blutbahn als bei den SSP-positiven Tieren mit stärkerer Einschränkung der Leberfunktion.

Das wäre vielleicht eine Erklärung für das unterschiedliche Verhalten der Serumlipide bei SSP-positiven und SSP-negativen Tieren. Diese Erklärung stützte sich auch auf das unterschiedliche Verhalten der Lipoproteine in der papierelektrophoretischen Analyse. Der höhere Gehalt des Serums an Triglyceriden, veresterten Fettsäuren und Lipoproteinen bei SSP-negativen Tieren infolge des besseren Zustandes der Leber führte zu einer deutlicheren Zunahme der Lipoproteine sehr niedriger Dichte. Die Wanderungsgeschwindigkeit dieses hochmolekularen Fetteiweißkomplexes auf dem Papierstreifen nahm ab, zumal die FFS nicht so stark anstiegen wie bei den Tieren mit positivem SSP. Einen empfindlichen Indikator der Leberfunktion schienen die Alpha-Lipoproteine darzustellen. Bei den SSP-positiven Tieren schienensie dementsprechend gegenüber den SSP-negativen Tieren stärker vermindert zu sein.

Es tauchte nun die Frage auf, hatte die Änderung der Serumlipide nach der Endotoxininjektion bei der Auslösung des generalisierten SSP der trächtigen Ratte eine ursächliche Bedeutung?

HUTH und KARLICZEK⁴² kamen anhand des gleichzeitigen Ausbleibens von Lipidmobilisation und doppelseitigen Nierenrindennekrosen bei Kaninchen, die mit Reserpin behandelt wurden, zu dem Schluß, daß die Veränderungen der Serumlipide auch eine wesentliche Rolle in der Pathogenese des generalisierten SSP des Kaninchens spielen. Das wird durch eine Reihe von Hinweisen, die die Beziehungen zwischen den Serumlipiden und der Blutgerinnung beweisen, bestätigt. Die Rolle, die die Serumlipide bei der Auslösung des klassischen SSP bei Kaninchen spielen, erscheint damit einigermäßen geklärt^{39, 46}.

Im Verlauf des generalisierten SSP der trächtigen Ratte kam es, wie die vorliegenden Ergebnisse zeigten, zu einer erheblichen Vermehrung der freien Fettsäuren, die das Gerinnungssystem über eine Aggregation der Thrombozyten und eine Aktivierung des Hageman-Faktors beeinflussen können. Die Aktivierung der Blutgerinnung durch FFS wurde von CONNOR und Mitarb.^{17, 18}, HOAK und Mitarb.^{35, 36}, POOLE^{79, 80} und PILKINGTON⁷⁸ herausgestellt. Besonders prokoagulatorisch wirkten langkettig- gesättigte Fettsäuren.

CONNOR¹⁷ konnte zeigen, daß langkettig- gesättigte Fettsäuren in vitro und in vivo eine gerinnungsbeschleunigende und thrombosefördernde Wirkung hatten. Nach CONNOR und Mitarb.¹⁸ wirkten die FFS auf das Gerinnungssystem ähnlich prokoagulatorisch wie die Oberfläche von Glas. Ungesättigte Fettsäuren dagegen, wie Öl-, Linol- und Arachidonsäure, hatten keinen anderen Einfluß auf die Blutgerinnung als physiologische Kochsalzlösung.

CONNOR und Mitarb.¹⁸ und HOAK und Mitarb.^{35, 36} hatten eine von FFS-induzierte Thrombosebereitschaft auf eine Aktivierung des Hageman-Faktors durch die FFS zurückgeführt. Eine Aktivierung des Hageman-Faktors durch FFS nannten außer CONNOR¹⁸ MARGOLIS⁶⁰, DIDISHEIM und MIBASHAN²⁰ sowie BOTTI und BATNOFF¹² an.

CONNOR und Mitarb.¹⁸ fanden ferner, daß die Blutplättchen bei Hunden unmittelbar nach einer Fettsäureinfusion um durchschnittlich 220.000 abfielen. Auch eine mittelbare Vermehrung der FFS durch Mobilisation aus endogenen Fettdepots hatte einen gerinnungsbeschleunigenden Effekt¹⁸. Durch s.c. ACTH-Injektion erzielten CONNOR und Mitarb.¹⁸ beim Kaninchen einen Anstieg der FFS. Diese Vermehrung der FFS hatte eine deutliche Hyperkoagulabilität und Thrombenbildung in Lungen- und Jugularisvenen zur Folge.

MÜLLER-BERGHAUS et al.⁶⁷ fanden bei trächtigen Ratten, denen Endotoxin injiziert worden war und die eine Schwartzman-Reaktion entwickelt hatten, daß die Plättchen von 880.000 auf 76.000 bei SSP-positiven Tieren abfielen. Bei Tieren aber, denen sie Endotoxin injiziert hatten und die keine Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren aufwiesen, fanden sie einen Thrombozytenabfall in geringerem Maße, nämlich von 880.000 auf 451.000. Bei diesen Serumlipiduntersuchungen wurde festgestellt, ebenfalls bei trächtigen Ratten, daß die freien Fettsäuren bei SSP-positiven Tieren wesentlich höher anstiegen als bei denjenigen Tieren, die vom SSP verschont blieben. Somit sprechen zahlreiche Argumente für einen Kausalzusammenhang der Lipidveränderungen mit den Gerinnungsveränderungen und damit der letztlichen Ausbildung der disseminierten intravasalen Blutgerinnung beim SSP der trächtigen Ratte.

Ferner sei erwähnt, daß eine alimentäre Hyperlipämie antifibrinolytisch wirkt^{5, 30}.

Nach KOMMERELL und BERGER⁵⁰ ist die Fibrinolysehemmung durch Blutlipide von der Anwesenheit gesättigter Fettsäuren abhängig, nach PARPENHAGEN und Mitarb.⁷⁵ von Chylomikronen, Lipoproteinen niedriger Dichte und Phosphatiden.

MÜLLER-BERGHAUS et al.⁶⁷ konnten mit Alpha-Rezeptorenblockern (a-Sympathikolytika = Dibenzylin) das SSP bei trächtigen Ratten verhindern. Dabei schlossen sie eine Wirkung des Dibenzylins als Antikoagulanz oder Fibrinolytikum, beides Therapeutika zur Verhinderung des SSP, aus. Sie nahmen vielmehr an, daß die Wirkung der Alpha-Rezeptorenblocker auf die Beeinflussung vasomotorischer Veränderungen in der Peripherie zurückgeführt werden kann.

WESTERMANN¹⁰⁷ beschrieb, daß die Lipolyse durch Stimulierung der Adenylcyclase mit Noradrenalin, mit nachfolgender Umwandlung der Triglyceridlipase aus ihrer inaktiven in ihre aktive Form mit Hilfe von cyclischen 3,5 Adenosinmonophosphat (3,5-AMP) in Gang gesetzt werden kann. Andererseits wies er nach, daß Alpha-Sympathikolytika die Wirkung des vermehrt gebildeten cyclischen 3,5-AMP verhindern können. Dadurch kann aber die Lipolyse unmittelbar durch Inaktivbleiben der Triglyceridlipase verhindert werden¹⁰⁷.

Man kann also durchaus annehmen, daß Dibenzylin den geringeren Abfall der Thrombozyten und des Fibrinogens⁶⁷ durch eine Verhinderung der Lipolyse mitbewirkt.

Betrachtet man weiter die Serumlipide der Versuchstiere, die ebenfalls Endotoxin einmal injiziert erhielten, aber kein SSP entwickelten, dann paßt zu dieser Konzeption, daß die FFS und das freie Glycerin signifikant niedriger lagen als bei SSP-positiven Tieren.

Zusammenfassend wäre also zu sagen, daß der Anstieg der FFS und Serumlipide beim Auslösen des generalisierten SSP der trächtigen Ratte eine nicht weniger wichtige Rolle als bei nichtträchtigen Kaninchen zu spielen scheint.

Diese Annahme könnte auch erklären, warum das Auslösen des SSP nur bei trächtigen und nicht bei nichtträchtigen Ratten möglich war. Denn bei nichtträchtigen Ratten stie-

gen die FFS kaum und die Lipide im Gegensatz zu Kaninchen geringer an, wie hier gezeigt wurde. Außer durch Verabreichung von Endotoxin konnte man das generalisierte SSP bei der Ratte durch Fütterung von Iipoxyden in einem Futter, das arm an Vitamin E war⁶⁶, durch häufige Progesterongabe während der letzten Trächtigkeitstage^{94, 97} oder durch intraperitoneale Injektion von Serotonin¹⁰³ hervorrufen.

Das Auslösen des Phänomens durch Diät, Progesteron oder Serotonin war aber wieder nur bei trächtigen Ratten möglich, wie das auch bei i.v. Injektion von Endotoxin der Fall war.

Diese Tatsachengaben MÜLLER-BERGHAUS⁶⁸ Anlaß zu prüfen, ob das SSP der trächtigen Ratte, ausgelöst durch einmalige Endotoxininjektion, vielleicht durch ein Absterben der Frucht und der Placenta vermittelt wurde. Er hysterektomierte Ratten am 20. Trächtigkeitstag und applizierte gleich danach einmal 400 Gamma Endotoxin i.v.. Die so behandelten Tiere entwickelten das SSP in üblicher Weise. Ließ er aber die Tiere werfen und injizierte danach einmal Endotoxin und zwar in verschiedenen Zeitabständen nach dem Werfen, dann stellte er fest, daß 3-12 Stunden nach der Geburt nur noch in vereinzelt Fällen das SSP auftrat, 24 Stunden nach der Geburt war das Auslösen des SSP unmöglich.

Mit diesen Versuchen bewiesen MÜLLER-BERGHAUS⁶⁸ und auch andere Autoren^{109, 59}, daß die Trächtigkeit den mütterlichen Organismus umstimmte und ihn so für das Phänomen empfänglich machte, daß aber dem Uterus mit der Frucht und der Placenta für die Auslösung des Phänomens letztlich keine Bedeutung zukam. Ausgehend von der Tatsache, daß der Abfall der Thrombozyten und des Fibrinogenspiegels nach der gleichen Endotoxindosis bei nichtträchtigen Ratten weit geringer war als bei trächtigen Ratten, nahm MÜLLER-BERGHAUS⁶⁸ an, daß das Ausbleiben des Schwartzman-Phänomens bei der nichtträchtigen Ratte ein quantitatives Problem war.

Diese Annahme konnte weiter differenziert werden, als Versuche von MARGARETTEN et al.⁵⁹ zeigten, daß nicht-trächtige Ratten unmittelbar nach einer Thrombininfusion Fibrinablagerungen in den Glomerulumkapillaren aufwiesen, wie sie auch beim typischen Schwartzman-Phänomen gefunden wurden. Ließen sie aber die so behandelten nichtträchtigen Ratten 24 Stunden nach der Thrombininfusion am Leben und töteten sie danach, dann fanden sie keine Fibrinablagerungen mehr in den Glomerulumkapillaren. Wiederholten sie das gleiche Experiment bei trächtigen Ratten, dann waren in den Glomerulumkapillaren auch 24 Stunden nach der Thrombininfusion Fibrinthromben nachzuweisen, die sogar zu Nierenrindennekrosen geführt hatten.

MARGARETTEN und Mitarb.⁵⁹ blockierten nun das fibrinolytische System der nichtträchtigen Ratte mit Epsilon-Amino-Capron-Säure (EACA) und infundierten danach Thrombin; nun blieben die Fibrinablagerungen auch bei nicht-trächtigen Ratten bestehen, wie das bei trächtigen der Fall war.

Ebenso konnten sie ein Schwartzman-Phänomen bei nicht-trächtigen Ratten mit einer einzigen Endotoxininjektion auslösen, wenn sie das fibrinolytische System durch EACA hemmten.

Durch diese Experimente konnten MARGARETTEN et al.⁵⁹ beweisen, daß signifikante Unterschiede in der fibrinolytischen Aktivität zwischen trächtigen und nichtträchtigen Ratten bestanden. Möglicherweise wirkte die Vermehrung der Serumlipide bei der trächtigen Ratte analog zu EACA fibrinolysehemmend und damit auch indirekt prokoagulatorisch. Verglich man die Serumlipide der nichtträchtigen Ratten, die Endotoxin erhielten, mit denen der trächtigen Ratten ohne Endotoxingabe, dann stellte man fest, daß mit Ausnahme der freien Fettsäuren und des freien Glycerins alle anderen Serumlipide unter den Werten der trächtigen Kontrolltiere blieben. Veresterte Fettsäuren und Triglyceride lagen sogar signifikant unter den Werten der trächtigen Tiere.

Anhand des signifikanten Anstiegs der Serumlipide während der Trächtigkeit und des fast unverändert bleibenden Blutfettspiegels nach der Endotoxininjektion der nichtträchtigen Ratte ließ sich folgendes annehmen: Die Trächtigkeit führte zur Trächtigkeitshyperlipidämie, nicht nur durch die gesteigerte Lipogenese aus dem Acetat-pool, sondern auch durch Mobilisierung des Depotfettes⁶⁶. Diskutieren konnte man ferner eine präparative Aktivierung des Sympathikus und Nebennierenmarks, die nach Gabe des Endotoxins weiter aktiviert wurden und so zu einer viel stärkeren Freisetzung von Katecholaminen und folglich zu einer stärkeren Lipolyse führten(WURTMANN¹¹⁰).

Sicher war die Fibrinolyse bei der nichtträchtigen Ratte signifikant stärker⁵⁹ und damit in der Lage, die in den Glomerulumkapillaren abgelagerten Fibrinfäden besser wieder aufzulösen als bei trächtigen Ratten. So konnte es nicht zu bleibenden Fibrinthromben und dadurch auch nicht zu Nierenrindennekrosen bei nichtträchtigen Ratten kommen.

Die schnellere Aktivierung der Lipolyse bei den trächtigen Ratten führte zu einem Anstieg der FFS und der Serumlipide, die bei der Auslösung des Phänomens eine doppelte Rolle spielen könnten. Einmal im Sinne der von CONNOR und Mitarb.¹⁰ sowie anderen Forschern^(20, 12, 60) beschriebenen Beschleunigung der Gerinnung durch Aktivierung des Hageman-Faktors und zweitens durch Hemmung der Fibrinolyse^(60, 50).

Eine zweimalige Vorbehandlung der trächtigen Ratten mit jeweils 600 mg/kg Körpergewicht "essentiellen" Phospholipiden (EPL) i.v. vor der Endotoxingabe senkte, wie aus den Ergebnissen hervorging, die Sterblichkeitsquote von 63% auf 0% innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Endotoxininjektion, sie verhinderte aber nicht die Ausbildung des SSP (Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren).

Die von MÜLLER-BERGHAUS et al.⁶⁹ beobachtete günstige Wirkung von EPL auf das sonst letale Phänomen bei Kaninchen konnte somit mindestens für die ersten 4 Stunden bestätigt werden. Eine Verhinderung der Auslösung des generalisierten SSP bei der trächtigen Ratte konnte dagegen mit der EPL-Vorbehandlung nicht erreicht werden. Eine Verminderung der Hyperlipämie bei der trächtigen Ratte ohne Endotoxin war durch EPL-Behandlung ebenfalls nicht zu erzielen. SCHRADER und Mitarb.⁸⁸, DORNBUSCH und ZIELKE²², JUCHEMS und GROSS⁴⁴ und eine Reihe anderer Autoren beschrieben bei Hyperlipämien des Menschen, besonders bei der Arteriosklerose, einen Kläreffekt des EPL. Die hier vorgelegten Ergebnisse bei trächtigen Ratten, die mit EPL behandelt wurden, ohne daß eine Endotoxininjektion nachfolgte, zeigten keine Verminderung der Trächtigkeitshyperlipämie.

Wenn in diesen Versuchen den trächtigen Ratten 1 1/2 Stunden nach der zweiten EPL-Behandlung 400 Gamma ET 31-Endotoxin appliziert und 4 Stunden später die FFS untersucht wurden, dann war zu bemerken, daß sie sich anders verhielten als bei unbehandelten Tieren, obwohl die EPL-Behandlung keinen Einfluß auf die Entwicklung des SSP zeigte. Das freie Glycerin und die freien Fettsäuren erreichten bei EPL-vorbehandelten Tieren etwa die gleiche Höhe wie bei unbehandelten Tieren, die trotz der Endotoxinapplikation keine Fibrinablagerung in den Glomerulumkapillaren aufwiesen. Der Triglyceridspiegel stieg dagegen nach der Endotoxinapplikation etwa genau so hoch wie bei unbehandelten Kontrollratten an, die 4 Stunden nach der Endotoxininjektion Fibrinthromben in den Glomerulumkapillaren aufwiesen. Auffallend war, was auch von MÜLLER-BERGHAUS et al.⁶⁹ bei Kaninchen beschrieben wurde, daß das Gesamtcholesterin und die veresterten Fettsäuren bei den mit EPL und Endotoxin behandelten trächtigen Ratten doppelt so hoch anstiegen wie bei Tieren ohne EPL-Behandlung, die ein SSP entwickelten.

Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigten keine Wirkung der essentiellen Phospholipide auf die Trächtigkeitshyperlipämie und auf die durch Endotoxin verstärkte Hyperlipämie der trächtigen Ratte.

Der sowohl von DORNBUSCH und ZIELKE²², ASTALDI und MEARDI⁴, RAUSCHENBACH³¹ und einer Reihe anderer Autoren beschriebene Abfall der Cholesterinkonzentration im Blut der Arteriosklerotiker, der von JUCHEMS und GROSS⁴⁴ beschriebene Abfall der veresterten Fettsäuren 2 Stunden nach EPL-Behandlung von Arteriosklerotikern und auch der von SCHRADE und Mitarb.⁸⁸ beobachtete Kläreffekt von EPL nach i.v. Injektion bei Hyperlipämie des Menschen konnten im Tierversuch an trächtigen Ratten nicht bestätigt werden.

Die Ergebnisse der Versuchsgruppe, bei der die trächtigen Ratten vor der Endotoxinapplikation zweimal jeweils 600 mg/kg Körpergewicht reine "essentielle" Phospholipide, d.h. EPL ohne die Beimischung von Vitamin E und Vitamin B₆ erhielten, zeigten, daß diese Therapie eher schadet als nützt, denn bei 100% der Fälle war histologisch das Bild eines generalisierten SSP nachweisbar. Auch die Serumlipidspiegel lagen mit Ausnahme der FFS weit über den unbehandelten Kontrolltieren.

Wurden die Versuchstiere, die zur Auslösung des generalisierten SSP bestimmt waren, vorher mit Vitamin E behandelt, dann ergab sich eine Senkung der Sterblichkeitsquote und eine Verminderung der Häufigkeit des typischen SSP. Der Ausfall der Behandlung mit Vitamin E war aber nicht so überzeugend, daß auf eine sichere Verhinderung des SSP bei den trächtigen Ratten durch Vitamin E-Behandlung geschlossen werden könnte. Die von KAUNITZ et al.⁴⁷ nach Vitamin E-Behandlung beobachteten Erfolge bei dem durch Lebertranfütterung ausgelösten SSP beruhten sicher auf der seit langem bekannten Wirkung dieses Vitamins als Antioxydans¹⁹.

SCHETTLER und SANWALD⁹⁰ gaben als Hauptfunktion von Vitamin E dessen antioxydative Aktivität an, d.h. Vitamin E schützt ungesättigte Fettsäuren und verhindert die Bildung toxischer Lipoperoxyde. Eine direkte Wirkung des Vitamins E auf die Serumlipide war nicht anzunehmen.

Betrachtete man die mit Vitamin E vorbehandelten und SSP-negativ gebliebenen Ratten und verglich ihre Serumlipide mit denjenigen der Kontrolltiere, die ebenfalls kein SSP entwickelten, dann zeigten, mit Ausnahme der veresterten Fettsäuren, die bei Vitamin E-Behandlung signifikant anstiegen, alle anderen Lipide keinen signifikanten Unterschied.

Betrachtete man dagegen die Serumlipidkonzentrationen der SSP-positiven Ratten bei beiden Gruppen, dann war festzustellen, daß außer dem signifikanten Anstieg der veresterten Fettsäuren bei den mit Vitamin E behandelten Tieren auch ein signifikant höherer Gehalt an Triglyceriden nachweisbar war, der mit einem niedrigeren Gehalt an FFS verbunden war.

Der höhere Triglyceridgehalt des Serums der mit Vitamin E behandelten Tiere und der niedrige Gehalt an FFS war mit großer Wahrscheinlichkeit darauf zurückzuführen, daß Vitamin E als Leberschutzmittel^(28a, 47) wirkte, so daß sich die toxische Wirkung des Endotoxins auf die Leber weniger auswirkte als bei unbehandelten Ratten. Die Resynthetisierung der durch die Lipolyse freigewordenen FFS und des Glycerins zu Triglyceriden war infolgedessen weniger als bei unbehandelten Tieren gestört.

Das Gesamtcholesterin stieg bei den mit Vitamin E vorbehandelten Ratten, wie auch von BRÜGER¹⁴ bei Kaninchen und von WEITZEL¹⁰⁶ bei 3-4jährigen Hennen beschrieben, sowohl bei SSP-positiven als auch bei SSP-negativen Tieren etwas stärker als bei unbehandelten Tieren an.

Betrachtet man die Ergebnisse der histologischen Untersuchungen der mit Vitamin B₆ vorbehandelten Tiere und verglich sie mit denjenigen der trächtigen Kontrolltiere, die ohne Vorbehandlung dem Versuch ausgesetzt wurden, dann war eine Senkung des Anteils der Ratten mit positivem SSP um etwa 30% festzustellen. Zog man die Ergebnisse der serologischen Untersuchung hinzu und verglich man die Serumlipide der 2 Gruppen, dann war weiter festzustellen, daß sämtliche Serumlipide der mit Vitamin B₆ vorbehandelten und SSP-negativ gebliebenen Tiere etwa auf die gleiche Höhe anstiegen wie die der unbehandelten und SSP-negativen Tiere.

Die Beziehungen zwischen Vitamin B₆ und Lipidstoffwechsel waren nicht klar¹⁰⁵.

WAGNER und WAGNER¹⁰¹ bewiesen durch Untersuchungen an Ratten, daß der Fettsäurestoffwechsel durch Vitamin E und Vitamin B₆ beeinflusst wurde. Sie sahen nach Zufuhr von Vitamin B₆ bei Vitamin B₆-Mangelratten innerhalb kurzer Zeit eine beträchtliche Erhöhung der Umwandlungsrate von Stearinsäure in Ölsäure.

MUELLER⁷⁰ nahm als sicher an, daß Pyridoxalphosphat nicht direkt, d.h. als Coenzym, am Lipidstoffwechsel beteiligt ist, sondern diesen sekundär beeinflusst. Er diskutierte z.B. Veränderungen im Proteinstoffwechsel in Verbindung zum Lipidtransport. Weitere Möglichkeiten in den Beziehungen zwischen Vitamin B₆ und Lipidstoffwechsel suchten SWELL et al.⁹⁹ in Veränderungen im Stoffwechsel der stickstoffhaltigen Basen der Phospholipide.

BATALOVA⁶ fand bei Versuchen an Kaninchen und Ratten, wie schon in der Literaturübersicht erwähnt, keine Wirkung von Vitamin B₆ auf die Verteilung der Lipoproteine und des Cholesteringehaltes in den Alpha- und Beta-Lipoproteinen.

Wie von WEBER und WISS¹⁰⁵ geschildert wurde, ist die Leber eines der Hauptorgane für die Aktivierung von verschiedenen Enzymen und damit auch von Vitamin B₆-haltigen Enzymen. Andererseits ist aber bekannt, daß ohne diese Enzyme viele Reaktionen im Organismus nicht stattfinden können. Wird also die Leber geschädigt, was nach hohen Endotoxindosen mit großer Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist, dann wird sehr wahrscheinlich auch die Aktivierung einiger Enzyme beeinträchtigt. Wird dagegen vorher ein Leberschutzpräparat gegeben, z.B. Vitamin B₆, so ist möglicherweise der "Widerstand" der Leber gegenüber Endotoxin größer, und sie kann ihre Funktionen besser aufrecht erhalten.

Betrachtete man die Ergebnisse der obengenannten Therapieversuche zur Verhinderung des Phänomens, so konnte man zu der Schlußfolgerung kommen, daß eine Verhinderung des SSP bei der trächtigen Ratte nur bis zu einem gewissen Grad durch Vitamin B₆-Behandlung möglich war.

6,0 Zusammenfassung

Trächtigen Ratten wurden einmalig 400 Gamma/Tier E. coli-Endotoxin intravenös injiziert. Tiere, die bei der histologischen Untersuchung Fibrinthromben in den Glomerulumpapillaren als Anzeichen eines generalisierten Sauerelli-Schwartzman-Phänomens (SSP) aufwiesen, zeigten 4 Stunden nach der Endotoxininjektion einen ausgeprägten Anstieg der freien Fettsäuren (FFS) und des freien Glycerins im Serum im Sinne einer Stimulation der Lipolyse.

Serumtriglyceride, veresterte Fettsäuren und Cholesterin im Serum zeigten geringere Veränderungen. Damit wurde gezeigt, daß es beim SSP der trächtigen Ratte, ausgelöst durch einmalige Gabe von Endotoxin, zu Fettstoffwechselveränderungen kommt, insbesondere zu einer ausgeprägten Hyperlipacidämie und Hypertriglyceridämie.

Bei Tieren, die bei gleicher Versuchsanordnung kein SSP entwickelten, stiegen die FFS, das freie Glycerin und das Cholesterin signifikant weniger an als bei SSP-positiven Tieren, d.h. die Lipolyse war deutlich geringer. Dagegen stiegen die Triglyceride und die veresterten Fettsäuren höher an als bei Tieren, die ein SSP entwickelten.

Um die Bedeutung der Trächtigkeit der Ratte für die Stimulierung der Lipolyse und der Endotoxin-induzierten Hyperlipämie zu untersuchen, wurden jungen, nichtträchtigen Ratten ebenfalls einmalig 400 Gamma Endotoxin injiziert. Die FFS und das freie Glycerin stiegen ebenfalls an, blieben aber unter den Werten der trächtigen Tiere, die Endotoxin bekamen, aber nach der Endotoxininjektion kein SSP entwickelten. Serumtriglyceride, veresterte Fettsäuren und Cholesterin blieben unter den Werten der trächtigen Ratten ohne Endotoxingabe.

Versuche zur Verhinderung des generalisierten SSP durch "essentielle" Phospholipide sowie durch deren Komponenten, Vitamin E, Vitamin B₆ und EPL-purosum, zeigten, daß Vitamin B₆ und vielleicht auch Vitamin E das Auftreten des Phänomens bis zu einem gewissen Grade verhindern können, wenn sie zweimal in Abständen von 7 1/2 und 1 1/2 Stunden vor der Endotoxininjektion i.v. appliziert werden.

Die "essentiellen" Phospholipide verhinderten das Sterben der Tiere innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Endotoxininjektion vollständig, sie hatten aber keinen Einfluß auf das generalisierte SSP.

Die Endotoxin-induzierte Hyperlipacidämie bei trächtigen Ratten wurde durch die Behandlung mit den genannten Mitteln in unterschiedlichem Ausmaß vermindert. Die Endotoxin-induzierte Hyperlipämie bei trächtigen Ratten konnte durch keines der angewandten Mittel verhindert werden.

Tab. 1: Die Konzentration von Gesamtcholesterin (Chol),
veresterten Fettsäuren (VFS), freiem Glycerin
(Fr.Gl.), Triglyceriden (TG) und freien Fett-
säuren (FFS) in mg/100 ml bzw. μ Val/l im Blut
bei nichtträchtigen Ratten ohne Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μ Val/l
1	75	350	2,65	257	419
2	88	214	-	-	525
3	86	277	1,40	128	647
4	-	249	1,47	174	647
5	82	107	1,88	180	471
6	84	-	1,19	158	571
7	80	304	1,54	277	671
8	82	368	2,02	146	-
9	88	254	1,42	128	588
10	72	196	1,45	156	553
M	81	258	1,67	178	566
Sm _(n) ±	1,8 ₍₉₎	26,8 ₍₉₎	0,15 ₍₉₎	17,9 ₍₉₎	28,2 ₍₉₎

M = Mittelwerte

Sm = Standardabweichung der Mittelwerte

(n) = Zahl der Einzelwerte

Tabelle 2: Die Konzentration von Gesamtcholesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), freiem Glycerin (Fr.Gl.), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) in mg/100 ml bzw. μ Val/l bei trächtigen Ratten ohne Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μ Val/l
1	-	229	2,79	171	576
2	79	394	3,35	335	663
3	86	479	2,23	365	797
4	75	406	1,95	340	488
5	94	396	1,95	189	-
6	87	358	4,74	407	902
7	95	248	1,19	187	826
8	73	451	4,12	315	972
9	74	463	2,30	334	652
10	72	465	2,79	384	813
11	70	352	3,63	308	-
12	72	-	4,65	308	982
M	80	385	2,97	304	767
Sm _(n)	2,8 ₍₁₁₎	25,4 ₍₁₁₎	0,33 ₍₁₂₎	22,8 ₍₁₂₎	52,8 ₍₁₀₎
p-NTRO	n.s.	p<0,005	p<0,005	p<0,001	p<0,005

M = Mittelwerte

Sm = Standardabweichung der Mittelwerte

(n) = Zahl der Einzelwerte

p-NTRO = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei trächtigen und nichtträchtigen Ratten ohne Endotoxin

n.s. = nicht signifikant

NTRO = Nicht-Trächtige-Ratten-ohne Endotoxin

Tabelle 3: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-positiven trächtigen Ratten, denen 400 Gamma Dirco Nr. 1-Endotoxin injiziert worden war und die 4 Stunden nach der Injektion entblutet wurden

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μVal/l
12	134	-	-	-	-
13	122	-	6,98	895	-
14	153	1333	5,58	1257	-
18	134	1404	5,86	1075	1429
24	129	1037	4,19	657	2024
35	122	891	6,00	640	1161
M	132	1166	5,72	905	1538
Sm _(n) ±	4,7 ₍₆₎	121,4 ₍₄₎	0,45 ₍₅₎	119,3 ₍₅₎	255,3 ₍₃₎
p--0	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,0005	p<0,05

p--0 = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-positiven Tieren gegenüber trächtigen Kontrolltieren

Tabelle 4: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-negativen trächtigen Ratten, denen 400 Gamma Difco Nr. 1-Endotoxin injiziert worden war und die 4 Stunden nach der Injektion entblutet wurden.

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μVal/l
28	113	-	3,63	1169	-
41	-	978	5,44	1117	1054
42	-	913	7,67	1086	1231
43	90	1148	5,23	1000	909
44	101	941	6,98	781	973
45	87	1120	6,70	1116	1301
46	97	1050	6,28	1009	1124
M	98	1025	5,99	1040	1099
Sm _(n) ±	4,6 ₍₅₎	39,4 ₍₆₎	0,5 ₍₇₎	48,8 ₍₇₎	61,35 ₍₆₎
p--o	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,01
p-SSPpos	p < 0,001	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

p-o = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-negativen Tieren gegenüber trächtigen Kontrolltieren

p-SSPpos = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-negativen Tieren gegenüber SSP-positiven Tieren

Tabelle 5: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-positiven trächtigen Ratten, denen 400 Gamma Difco Nr. 2-Endotoxin injiziert worden war und die 4 Stunden nach der Endotoxininjektion entblutet wurden

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS µVal/l
49	95	794	-	-	1731
51	120	717	7,53	540	1172
54	107	739	7,53	568	1086
97	72	717	6,28	694	1400
M	98	742	7,11	601	1347
Sm _(n) ±	10,2(4)	18,2(4)	0,4(3)	47,4(3)	144,1(4)
p--o	n.s.	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,01

p--o = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-positiven Tieren gegenüber trächtigen Kontrolltieren

Tabelle 6: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin und freien Fettsäuren bei SSP-negativen trächtigen Ratten, denen 400 Gamma Difco Nr. 2-Endotoxin injiziert worden war und die 4 Stunden nach der Endotoxininjektion entblutet wurden

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μVal/l
55	81	652	5,44	645	925
58	93	783	6,14	906	1161
59	92	761	7,07	705	-
63	54	237	3,35	156	1011
68	50	162	4,33	260	1124
69	65	324	3,84	218	888
71	87	548	8,93	508	1359
72	78	462	5,65	511	956
76	65	395	5,72	416	1135
78	75	119	5,68	149	812
79	70	419	6,42	404	829
80	103	564	6,28	509	988
82	69	552	7,53	408	1359
83	72	338	7,53	342	1165
87	62	162	-	-	888
88	87	224	5,23	304	1212
89	66	243	5,30	283	1153
92	70	462	7,67	341	1371
94	78	662	7,32	740	900
95	62	471	7,25	307	1459
98	75	317	7,67	345	1076
100	61	231	7,12	218	1076
M	73	413	6,26	413	1087
Sm _(n) ±	2,8(22)	41,9(22)	0,3(21)	43,8(21)	41,3(21)
p-0	n.s.	n.s.	p<0,001	p<0,05	p<0,001
p-SSPpos	p<0,05	p<0,001	n.s.	p<0,01	n.s.

p-0 = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide der SSP-negativen Tiere gegenüber trächtigen Kontrolltieren

p-SSPpos = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide der SSP-negativen Tiere gegenüber SSP-positiven Tieren

Tabelle 7: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-positiven trächtigen Ratten, denen 400 Gamma ET 31-Endotoxin injiziert worden war und die 4 Stunden nach der Endotoxininjektion entblutet wurden

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS µVal/l
150	130	646	9,77	517	-
159	144	602	5,16	327	-
171	101	980	-	-	1853
188	93	567	6,56	314	-
212	133	342	11,52	332	-
220	101	-	7,67	390	1850
221	143	-	7,53	418	-
228	102	630	8,16	393	2050
231	108	-	-	-	2651
243	96	558	5,30	628	1386
260	94	922	11,44	700	-
274	-	1069	4,50	422	2559
287	116	1060	8,16	676	2053
295	120	700	4,86	500	-
299	136	550	-	-	2566
313	150	804	7,53	634	1697
332	103	504	10,04	327	2211
337	89	356	5,58	289	1388
341	-	356	5,02	306	1734
M	115	665	7,43	448	2000
Sm _(n) ±	4,9 ₍₁₇₎	60,1 ₍₁₆₎	0,6 ₍₁₆₎	35,6 ₍₁₆₎	125,1 ₍₁₂₎
p--o	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,005	p<0,001

p--o = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-positiven Tieren gegenüber trächtigen Kontrolltieren

Tabelle 8: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-negativen trächtigen Ratten, denen 400 Gamma ET 31-Endotoxin injiziert wurde und die 4 Stunden nach der Endotoxininjektion entblutet wurden

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS µVal/l
153	88	678	4,18	738	1135
163	84	902	4,67	756	1323
238	100	1092	3,91	990	-
268	110	-	5,30	995	1250
272	102	-	5,87	992	1517
280	92	1425	6,98	1206	1546
286	88	1227	3,84	1038	1085
291	92	1570	6,28	1225	1546
294	70	955	4,60	766	1250
301	129	1387	5,44	1126	1382
305	78	755	3,91	632	1118
324	111	700	3,35	618	1079
330	110	607	3,35	722	1322
331	103	878	3,91	820	1243
345	-	704	-	-	1211
M	97	991	4,69	902	1286
Sm(n)±	4,1(14)	89,0(13)	0,3(14)	54,9(14)	43,5(14)
p--o	p<0,005	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001
p--SSPpos	p<0,01	p<0,01	p<0,001	p<0,001	p<0,001

p--o = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-negativen Tieren gegenüber trächtigen Kontrolltieren

p--SSPpos = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-negativen Tieren gegenüber SSP-positiven Tieren

Tabelle 9: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-positiven trächtigen Ratten ohne zweimalige EPL-Behandlung vor der Applikation von 400 Gamma ET 31-Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μVal/l
10 SSP-positive trächtige Ratten ohne Vorbehandlung					
150	130	646	9,77	517	-
159	144	602	5,16	327	-
171	101	980	-	-	1853
188	93	567	6,56	314	-
212	133	342	11,52	332	-
220	101	-	7,67	390	1850
221	143	-	7,53	418	-
228	102	630	8,16	393	2050
231	108	-	-	-	2651
243	96	558	5,30	628	1386
M	115	618	7,60	415	1958
Sm _(n) ±	6,35 ₍₁₀₎	71,47 ₍₇₎	0,76 ₍₈₎	38,21 ₍₈₎	204,77 ₍₅₎

Tabelle 9a: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-positiven trächtigen Ratten mit zweimaliger EPL-Behandlung vor der Applikation von 400 Gamma ET 31-Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS µVal/l
24	268	-	-	-	1541
27	322	1679	1,95	462	982
31	298	973	2,93	462	1159
32	284	1400	3,63	410	1100
37	217	1272	5,86	477	964
38	293	1917	5,44	532	-
39	243	1451	6,70	218	1188
40	218	1179	4,46	278	1482
43	214	1243	4,18	491	1687
45	212	1769	-	-	-
46	210	1267	3,63	446	1084
47	230	1340	-	-	-
48	265	1500	4,05	404	-
M	252	1416	4,28	418	1243
Sm _(n) ±	11,6 ₍₁₃₎	77,1 ₍₁₂₎	0,45 ₍₁₀₎	30,97 ₍₁₀₎	86,99 ₍₉₎
p--SSPpos ohne	p<0,001	p<0,001	p<0,005	n.s.	p<0,01

p--SSPpos ohne = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-positiven trächtigen Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit EPL behandelt worden waren, gegenüber den SSP-positiven trächtigen Ratten, denen ohne Vorbehandlung 400 Gamma ET 31-Endotoxin injiziert wurden

Tabelle 10: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-negativen trächtigen Ratten mit und ohne zweimalige EPL-Behandlung vor der Applikation von 400 Gamma ET 31-Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μVal/l
3 SSP-negative trächtige Ratten ohne Vorbehandlung					
153	88	678	4,18	738	1135
163	84	902	4,67	756	1323
238	100	1092	3,91	990	-
M	91	891	4,25	828	1229
Sm _(n) ±	4,81 ₍₃₎	119,65 ₍₃₎	0,22 ₍₃₎	81,17 ₍₃₎	94,01 ₍₂₎
3 SSP-negative trächtige Ratten mit EPL-Vorbehandlung					
29	340	1437	1,81	322	1247
30	330	1254	3,49	343	1100
42	256	1459	1,74	379	1600
M	309	1383	2,35	348	1316
Sm _(n) ±	26,42 ₍₃₎	64,98 ₍₃₎	0,57 ₍₃₎	16,64 ₍₃₎	148,37 ₍₃₎
p--SSPneg ohne	p<0,001	p<0,025	p<0,05	p<0,01	n.s.

p--SSPneg ohne = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-negativen trächtigen Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit EPL behandelt worden waren, gegenüber den SSP-negativen trächtigen Ratten, denen ohne Vorbehandlung 400 Gamma ET 31 injiziert wurden

Tabelle 11: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSR-positiven trächtigen Ratten mit und ohne zweimalige Vitamin E-Behandlung vor der Applikation von 400 Gamma ET 31-Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μ Val/l
12 SSP-positive trächtige Ratten ohne Vorbehandlung					
150	130	646	9,77	517	-
159	144	602	5,16	327	-
171	101	980	-	-	1853
188	93	567	6,56	314	-
212	133	342	11,52	332	-
220	101	-	7,67	390	1850
221	143	-	7,53	418	-
228	102	630	8,16	393	2050
231	108	-	-	-	2651
243	96	558	5,30	628	1386
332	103	504	10,04	327	2211
337	89	356	5,58	289	1388
341	-	356	5,02	306	1737
M	112	554	7,48	386	1891
Sm _(n) ±	3,53(12)	60,01(10)	0,67(11)	31,28(11)	148,84(8)

7 SSP-positive trächtige Ratten mit Vitamin E-Vorbehandlung					
22	124	849	8,09	667	1394
29	80	710	6,70	552	1553
36	139	813	-	-	-
39	107	700	4,19	497	1243
41	130	795	4,26	581	1309
42	154	522	9,83	546	-
48	117	651	3,84	547	1191
M	122	720	6,15	565	1338
Sm _(n) ±	8,99(7)	42,36(7)	1,01(6)	23,20(6)	63,58(5)
p--SSPpos ohne	n.s.	p<0,05	n.s.	p<0,001	p<0,01

p--SSPpos ohne = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-positiven trächtigen Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit Vitamin E behandelt worden waren, gegenüber den SSP-positiven trächtigen Ratten, denen ohne Vorbehandlung 400 Gamma ET 31 injiziert wurden

Tabelle 12: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-negativen trächtigen Ratten mit und ohne zweimalige Vitamin E-Behandlung vor der Applikation von 400 Gamma ET 31-Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS µVal/l
7 SSP-negative trächtige Ratten ohne Vorbehandlung					
153	88	678	4,18	738	1135
163	84	902	4,67	756	1323
238	100	1092	3,91	990	-
324	111	700	3,35	618	1079
330	110	607	3,35	722	1322
331	103	878	3,91	820	1243
345	-	704	-	-	1211
M	99	794	3,90	774	1219
Sm _(n) ±	4,6 ₍₆₎	64,2 ₍₇₎	0,2 ₍₆₎	50,8 ₍₆₎	40,3 ₍₆₎
8 SSP-negative trächtige Ratten mit Vitamin E-Vorbehandlung					
23	134	1481	3,35	1244	971
25	100	1296	4,05	932	1265
26	129	1526	5,86	1197	1353
31	106	1097	9,21	839	-
32	93	705	6,52	663	-
40	146	1029	5,30	1071	1487
44	111	-	-	-	1158
45	89	-	-	-	1289
M	113	1189	5,72	991	1254
Sm _(n) ±	7,3 ₍₈₎	126,3 ₍₆₎	0,8 ₍₆₎	90,8 ₍₆₎	71,5 ₍₆₎
p--SSPneg ohne	n.s.	p<0,02	n.s.	n.s.	n.s.

p--SSPneg ohne = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-negativen trächtigen Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit Vitamin E behandelt worden waren, gegenüber den SSP-negativen trächtigen Ratten, denen ohne Vorbehandlung 400 Gamma ET 31 injiziert wurden

Tabelle 13: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-negativen trächtigen Ratten mit und ohne zweimalige Vitamin B₆-Behandlung vor der Applikation von 400 Gamma ET 31-Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS µVal/l
8 SSP-negative trächtige Ratten ohne Vorbehandlung					
268	110	-	5,30	995	1250
273	102	-	5,87	992	1517
280	92	1425	6,98	1206	1546
286	88	1227	3,84	1038	1085
291	92	1570	6,28	1225	1546
294	70	955	4,60	766	1250
301	129	1387	5,44	1126	1382
305	78	755	3,91	632	1118
M	95	1220	5,28	997	1337
Sm _(n) ±		126,4(6)	0,4(8)	73,3(8)	66,6(8)

12 SSP-negative trächtige Ratten mit Vitamin B ₆ -Vorbehandlung					
1	88	1324	4,49	839	-
2	79	1349	3,14	498	-
3	88	1660	4,18	927	1548
4	92	1903	5,58	881	1095
6	107	1226	4,00	465	1184
8	78	-	4,05	451	1349
9	78	750	4,05	574	1382
12	96	1025	4,60	776	1349
15	-	962	4,05	1017	1191
16	119	789	4,12	828	1224
17	114	909	3,49	1164	1026
18	128	1351	2,79	1199	1454
M	97	1204	4,05	802	1280
Sm _(n) ±	5,3(11)	109,1(11)	0,2(12)	74,9(12)	51,8(10)
p--SSPneg ohne	n.s.	n.s.	p<0,02	n.s.	n.s.

p--SSPneg ohne = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-negativen trächtigen Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit Vitamin B₆ behandelt worden waren, gegenüber den SSP-negativen trächtigen Ratten, denen ohne Vorbehandlung 400 Gamma ET 31 injiziert wurden

Tabelle 14: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei SSP-positiven trächtigen Ratten mit und ohne zweimalige EPL-purosum-Behandlung vor der Applikation von 400 Gamma ET 31-Endotoxin

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μVal/l
6 SSP-positive trächtige Ratten ohne Vorbehandlung					
260	94	922	11,44	700	-
274	-	1069	4,50	422	2559
287	116	1060	8,16	676	2053
295	120	700	4,86	500	-
299	136	550	-	-	2566
313	150	804	7,53	634	1697
M	123	851	7,30	586	2219
Sm _(n) ±	9,5 ₍₅₎	84,1 ₍₆₎	1,3 ₍₅₎	53,7 ₍₅₎	211,4 ₍₄₎
12 SSP-positive trächtige Ratten mit EPL-purosum-Vorbehandlung					
49	147	-	-	-	-
51	145	2396	-	-	1464
52	180	2750	2,65	1570	1190
53	187	-	2,51	1117	-
54	167	2547	2,51	1216	1131
55	162	-	2,51	915	1190
56	152	-	5,65	1001	-
57	168	-	2,51	1088	1071
59	153	897	5,30	609	-
60	155	1197	4,88	796	987
61	139	662	4,33	571	987
62	153	580	-	-	1158
M	159	1576	3,65	987	1147
Sm _(n) ±	4,1 ₍₁₂₎	359,4 ₍₇₎	0,5 ₍₉₎	103,9 ₍₉₎	53,7 ₍₅₎
p--SSPpos ohne	p<0,005	n.s.	p<0,01	p<0,02	p<0,001

p--SSPpos ohne = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei SSP-positiven trächtigen Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit EPL-purosum behandelt worden waren, gegenüber den SSP-positiven trächtigen Ratten, denen ohne Vorbehandlung 400 Gamma ET 31 injiziert wurden

Tabelle 15: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei trächtigen Ratten nach zweimaliger i.v. Injektion von EPL

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS µVal/l
1	234	878	2,51	287	1322
2	310	1422	2,51	259	1421
3	280	1249	3,91	575	1618
4	204	1222	1,67	455	1566
5	264	1189	4,19	242	1066
6	292	1158	2,51	253	1132
7	291	1420	3,35	439	-
M	268	1220	2,95	359	1354
Sm _(n) ±	14,0(7)	69,6(7)		49,4(7)	91,7(6)
p--o	p<0,001	p<0,001	n.s.	n.s.	p<0,001

p--o = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei mit EPL behandelten trächtigen Ratten gegenüber trächtigen Kontrolltieren

Tabelle 16: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei nichtträchtigen Ratten, denen 400 Gamma ET 31-Endotoxin injiziert worden war und die 4 Stunden nach der Injektion entblutet wurden.

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS μVal/l
1	88	-	3,91	292	-
2	86	276	-	-	941
3	88	272	2,16	100	911
4	64	121	2,58	60	1041
5	68	-	2,79	124	-
6	-	321	5,37	71	906
7	81	272	3,77	94	923
8	72	254	3,00	139	847
9	69	189	3,14	121	964
10	53	158	3,91	85	1355
11	52	381	-	-	1295
12	67	146	6,21	91	1386
18	61	265	3,98	226	873
M	71	241	3,71	127	1040
Sm _(n) ±	3,6(12)	23,9(11)	0,4(11)	21,3(11)	61,3(11)
p--NTRO	p<0,025	n.s.	p< 0,001	n.s.	p<0,001

p--NTRO = statistische Signifikanz der Unterschiede der Serumlipide bei nichtträchtigen Ratten mit Endotoxin gegenüber nichtträchtigen Ratten ohne Endotoxin.

NTRO = Nicht-Trächtige-Ratte-Ohne Endotoxin

Tabelle 17: Die Konzentration von Gesamtcholesterin, veresterten Fettsäuren, freiem Glycerin, Triglyceriden und freien Fettsäuren bei nichtträchtigen Ratten, denen 400 GammaET 31-Endotoxin injiziert worden war und die 24 Stunden nach der Injektion entblutet wurden

Nr.	Chol mg/100 ml	VFS mg/100 ml	Fr.Gl. mg/100 ml	TG mg/100 ml	FFS µVal/l
1	62	127	2,20	109	765
2	46	127	1,60	79	718
3	49	185	1,54	70	788
M	52	146	1,78	86	757

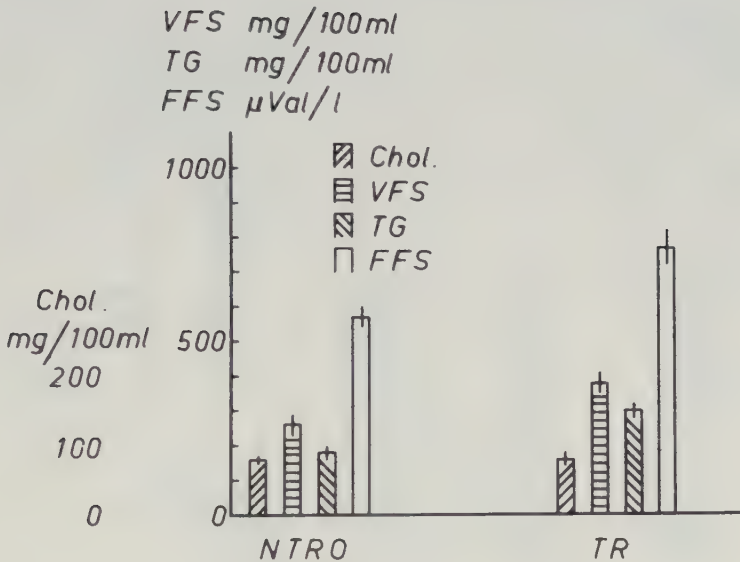


Abb. 2: Vergleich von Gesamtcholesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Serum bei nichtträchtigen und trächtigen Ratten. Angegeben sind die jeweiligen Mittelwerte in mg/100 ml bzw. μ Val/l mit der Standardabweichung der Mittelwerte (Sm).
NTRO = Nicht-Trächtige-Ratte-Ohne Endotoxin (Kontrolle)
TR = Trächtige Ratte ohne Endotoxin (Kontrolltiere)

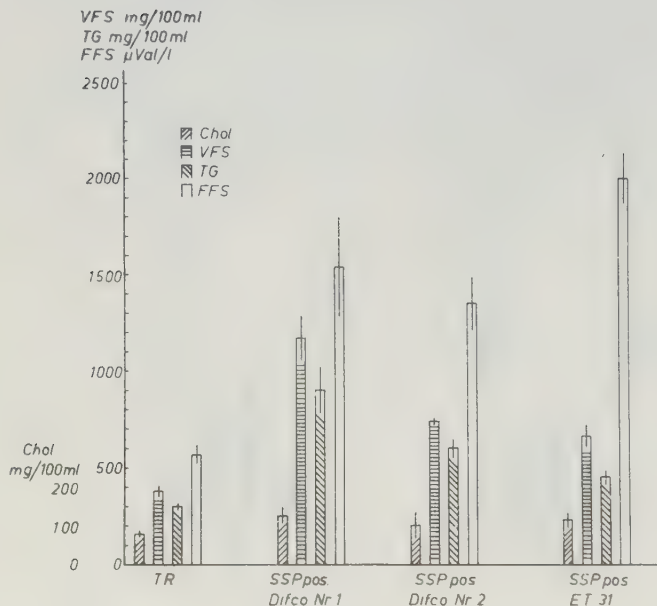


Abb. 3: Vergleich von Gesamtcholesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Serum bei trächtigen Ratten, die als Kontrolltiere kein Endotoxin bekommen hatten, und bei SSP-positiven trächtigen Ratten, die das SSP durch Difco Nr. 1, Difco Nr. 2 und ET 31-Endotoxin entwickelt hatten.

TR = Trächtige Ratten ohne Endotoxin (Kontrolltiere)
SSP-pos. Difco Nr. 1 = Trächtige Ratten, die das SSP durch das Difco Nr. 1-Endotoxin entwickelt hatten

SSP-pos. Difco Nr. 2 = solche mit Difco Nr. 2 behandelt
SSP-pos. ET 31 = solche mit ET 31 behandelt

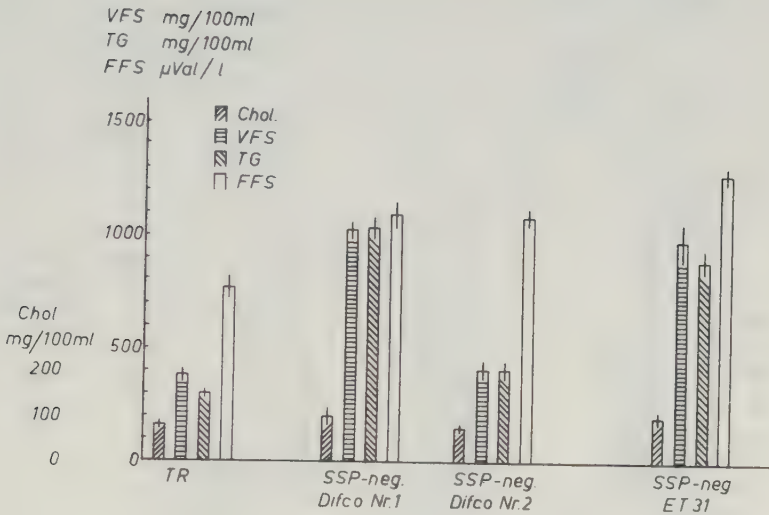


Abb. 4: Wie Abbildung 3 mit dem Unterschied, daß zwischen den trächtigen Kontrolltieren und denen, die nach der Endotoxininjektion kein SSP entwickelt hatten, verglichen wurde.

SSPneg. = trächtige Ratten, die nach der Endotoxininjektion kein generalisiertes SSP entwickelt hatten

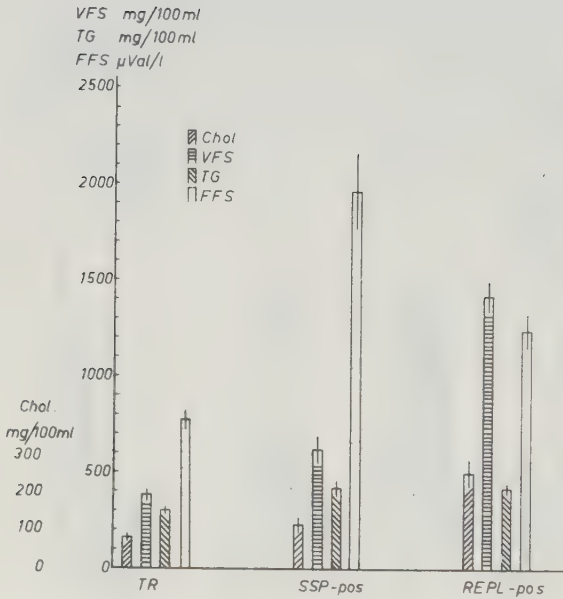


Abb. 5: Vergleich von Gesamtcholesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Serum bei trächtigen Ratten, die als Kontrolltiere kein Endotoxin bekommen hatten und bei SSP-positiven trächtigen Ratten mit und ohne EPL-Behandlung. Angegeben sind die jeweiligen Mittelwerte in mg/100 ml bzw. μVal/l mit der Standardabweichung der Mittelwerte (Sm).

TR = Trächtige Ratten ohne Endotoxin (Kontrolltiere)

SSP-pos. = Trächtige Ratten, die das SSP nach 400 Gamma ET 31 entwickelt hatten

REPLpos. = SSP-positive Tiere, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit EPL vorbehandelt worden waren

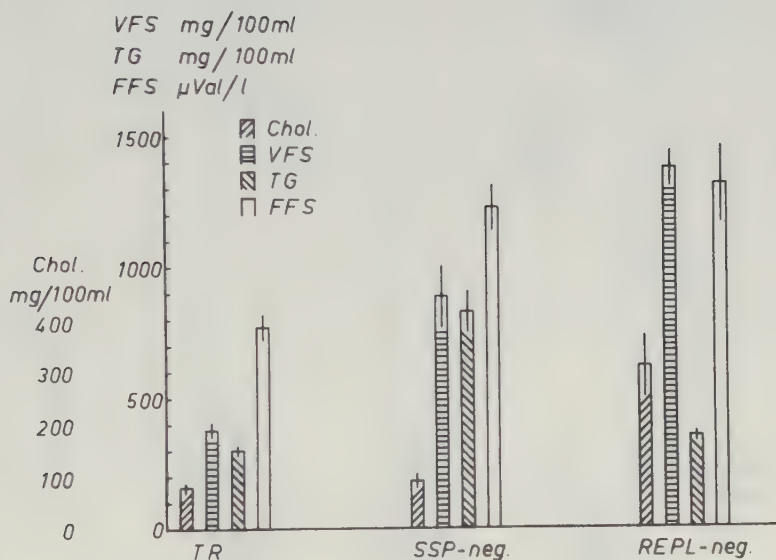


Abb. 6: Wie Abbildung 5, mit dem Unterschied, daß zwischen trächtigen Kontrolltieren und denen, die nach der Endotoxininjektion (ET 31) kein generalisiertes SSP entwickelten, verglichen wurde.

REPL-neg. = SSP-negative trächtige Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit EPL vorbehandelt worden waren

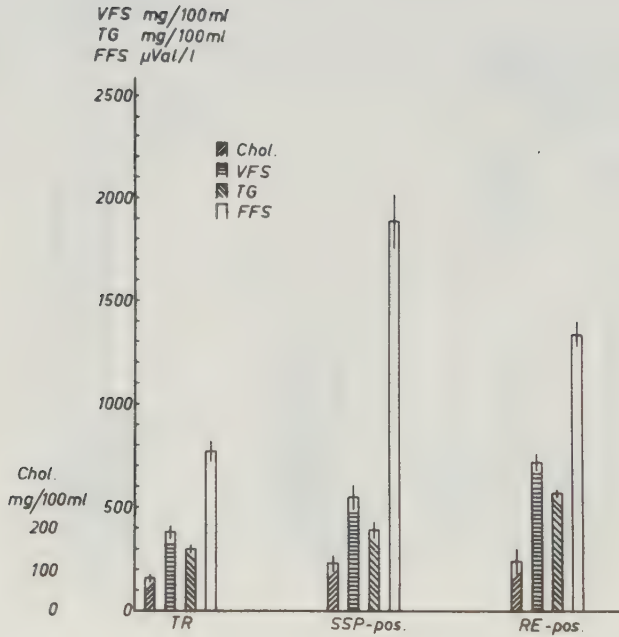


Abb. 7: Vergleich von Gesamtcholesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Serum bei trächtigen Ratten, die als Kontrolltiere kein Endotoxin bekommen hatten, und bei SSP-positiven trächtigen Ratten mit und ohne Vitamin E-Vorbehandlung.

RE-pos. = SSP-positive Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit Vitamin E vorbehandelt worden waren

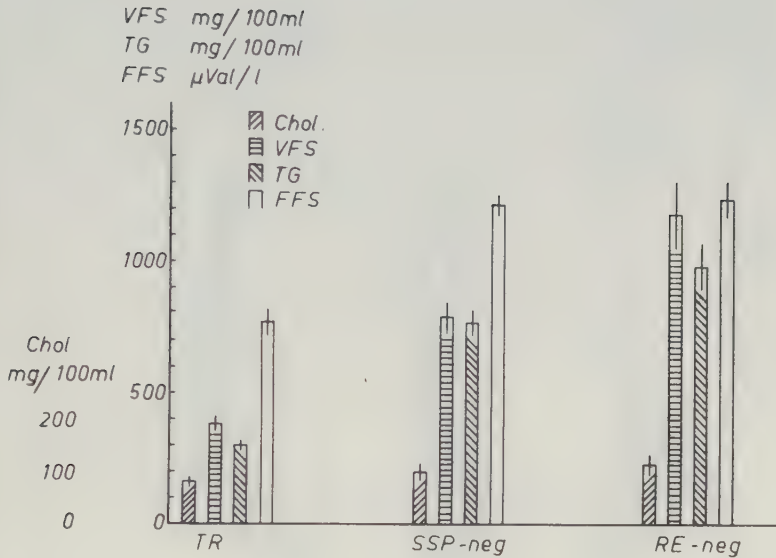


Abb. 8: Wie Abbildung 7, mit dem Unterschied, daß zwischen trächtigen Kontrolltieren und denen, die nach der Endotoxininjektion (ET 31) kein generalisiertes SSP entwickelten, verglichen wurde.

RE-neg. = SSP-negative Ratten, die vor der Endotoxininjektion zweimal mit Vitamin E vorbehandelt worden waren

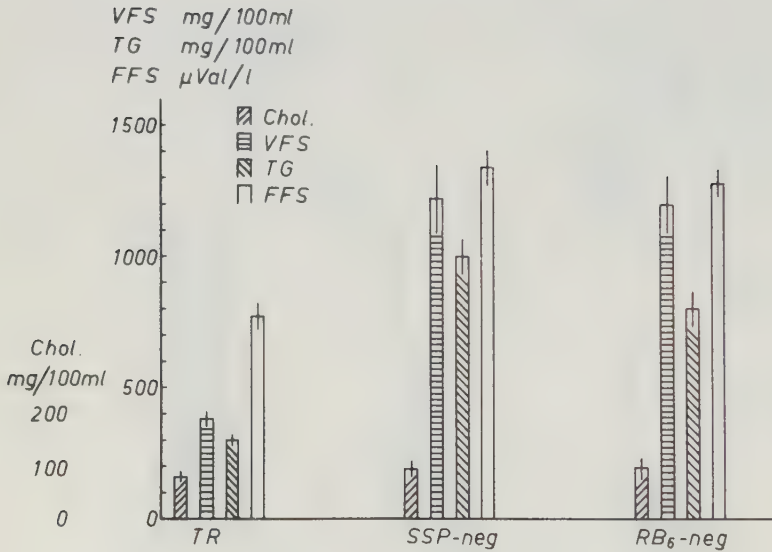


Abb. 9: Vergleich von Gesamtcholesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Serum bei trächtigen Ratten, die als Kontrolltiere kein Endotoxin bekommen hatten, und bei SSP-negativen trächtigen Ratten mit und ohne Vitamin B₆ Vorbehandlung.

RB₆-neg. = SSP-negative Ratten, die vor der Endotoxininjektion (ET 31) zweimal mit Vitamin B₆ vorbehandelt worden waren.

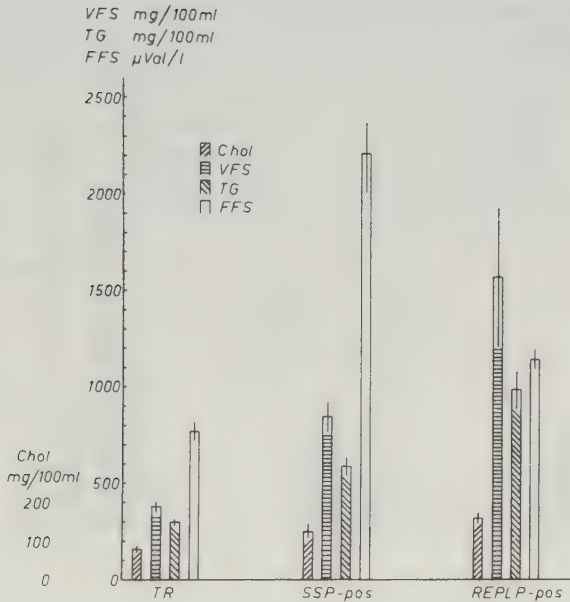


Abb. 10: Vergleich von Gesamtcholesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Serum bei trächtigen Ratten, die als Kontrolltiere kein Endotoxin bekommen hatten, und bei SSP-positiven trächtigen Ratten mit und ohne EPL-purosum-Vorbehandlung.

REPLPpos. = SSP-positive Ratten, die vor der Endotoxininjektion (ET 31) zweimal mit EPL-purosum vorbehandelt worden waren

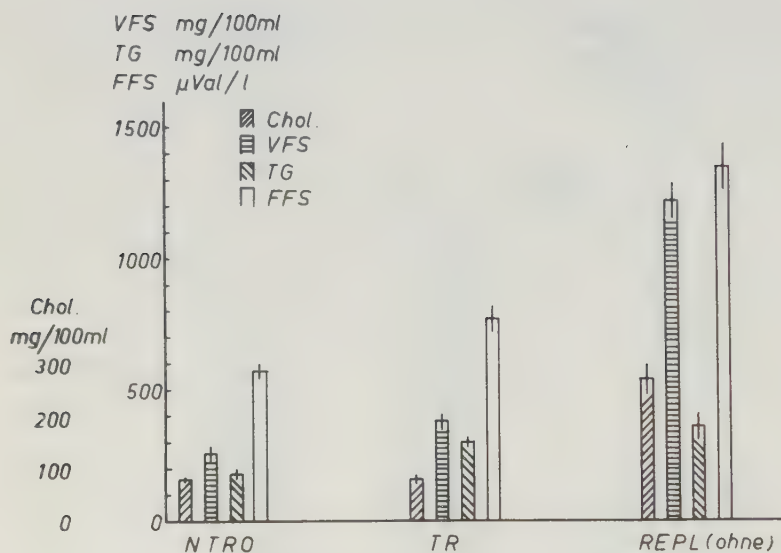


Abb. 11: Vergleich von Gesamtcholesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Serum bei nichtträchtigen und trächtigen Ratten, die als Kontrolltiere kein Endotoxin bekommen hatten, und bei trächtigen Ratten, die nur zweimal mit EPL behandelt worden waren.

NTRO = Nicht-Trächtige-Ratten-Ohne Endotoxin (Kontrolle)

TR = Trächtige-Ratten ohne Endotoxin (Kontrolle)

REPL-ohne = Trächtige Ratten, die zweimal mit EPL behandelt wurden, ohne Endotoxininjektion

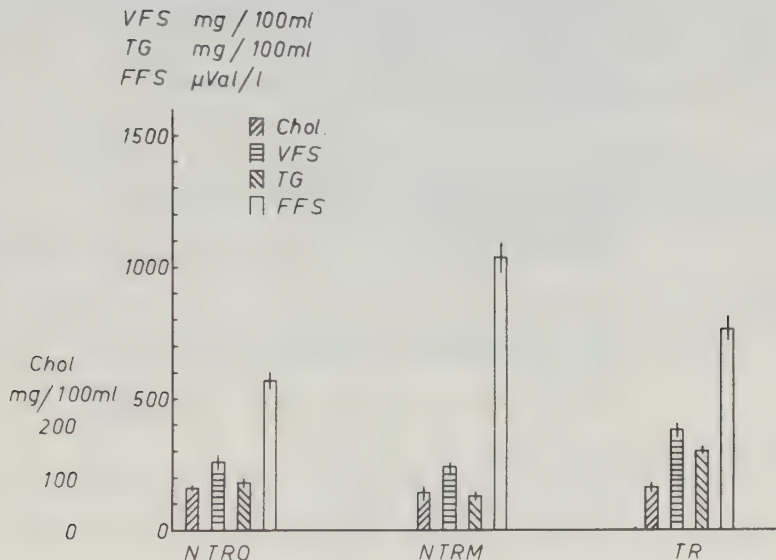


Abb. 12: Vergleich von Gesamtnolesterin (Chol), veresterten Fettsäuren (VFS), Triglyceriden (TG) und freien Fettsäuren (FFS) im Serum bei nichtträchtigen und trächtigen Ratten, die als Kontrolltiere kein Endotoxin bekommen hatten, und bei nichtträchtigen Tieren, die einmal 400 Gamma Endotoxin (ET 31) bekommen hatten.

NTRO = Nicht-Trächtige-Ratte-Ohne Endotoxin

TR = Trächtige Ratte ohne Endotoxin

NTRM = Nicht-Trächtige-Ratte-Mit Endotoxin

7,0 Literaturverzeichnis

1. ALBRINK, M.J.: The microtitration of total fatty acids of serum with notes on the estimation of triglycerids.
J. Lipid. Research 1, 53-59 (1959)
2. APITZ, K.: A study of the generalized Shwartzman phenomenon.
J. Immunol. 29, 255-266 (1935)
3. APITZ, K.: Die Wirkung bakterieller Kulturfiltrate nach Umstimmung des gesamten Endothels beim Kaninchen.
Virchows. Arch. path. Anat. 293, 1-33 (1934)
4. ASTALDI, G. und G. MEARDI:
Die Behandlung der Atherosklerose der unteren Gliedmaßen mit pflanzlichen Phospholipiden.
Minerva Medica 49, Nr. 45, S. 2260-2265
5. BANG, N.V. and E.E. CLIFTON:
The effect of alimentary hyperlipemia on thrombolysis in vivo.
Thromb. Diathes. haemorrh. 4, 149-166 (1960)
6. BATALOVA, L.V.: Vlijanie Vitamina B₆ na belkovye i lipoproteidnye frakcii syvorotki krovi krysa i krolikov.
Vopr. pitan. 23, 73-76 (1964)
7. BOHLE, A., H.-J. KRECKE, F. MILLER und H. SITTE:
Über die Natur des sogenannten Fibrinoids bei der generalisierten Shwartzmanschen Reaktion.
In: Immunologie, I. Internat. Symp., Basel/Seelisberg 1958, Schwabe, Basel 1959, S. 339-350
8. BOHLE, A. und H.-J. KRECKE:
Über das SSP (sog. generalisiertes Shwartzman-Phänomen) des Menschen.
Klin. Wschr. 37, 803-814 (1959)

9. BOGDONOFF, M.D., E.H. ESTES, S.J. FRIEDBERG and R.F.KLEIN:
Fat mobilization in man.
(Review) Ann. Int. Med. 55, 2, 328-338
(1961)
10. BOIVIN, A. and L. MESROBEANU:
Recherches sur les antigènes somatiques
et sur les endotoxines des bacteries.
I. Considérations générales et exposé
des techniques utilisees.
Rev. immunol. 1, 553-560 (1935)
11. BOOTH, E., E.L. MUIRHEAD and P.O.B. MONTGOMERY:
The "Fibrinoid" of renal cortical necro-
sis due to the Schwartzman reaction. Evi-
dence for its origin from smooth muscle.
Arch. Path. 61, 169-176 (1956)
12. BOTTI, R.E. and O.D. BATNOFF:
The clot-promoting effect of soaps of
long-chain saturated fatty acids.
J. Clin. Invest. 42, 1569-1577 (1963)
13. BRAGDON, J.H., R.J. HAVEL and E. BOYLE:
Human serum lipoproteins. I. Chemical
composition of four fractions. II. Some
effect of their intravenous injection
in rats.
J. Laborat. Clin. Med. 48, 36-42 und
43-50 (1956)
14. BRÜGER, M.:
Experimental atherosclerosis.
VII Effect of Vit. E.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 59, 56-57
(1945)
15. BRUNSON, J.G., L. THOMAS and C.N. GAMBLE:
Morphologic changes in rabbits following
the intravenous administration of
meningococcal toxin, II. Two appropriately
spaced injections, the role of fibrinoid
in the generalized Schwartzman reaction.
Amer. j. Path. 31, 655-667 (1955)
16. CARLSON, L.A., J. BOBERG and B. HOGSTEDT:
Some physiological and clinical implica-
tions of lipid mobilization from adipose
tissue.
Handbook of physiology 1965, sect. 5.
"Adipose" tissue, Ed.: A.E. Renold and
G.F. Cahill Chapt. 63

17. CONNOR, W.E.: The acceleration of thrombus formation by certain fatty acids.
J. Clin. Invest. 41, 1199-1205 (1962)
18. CONNOR, W.E., J.C. HOAK and E.D. WARNER:
The role of lipids in thrombosis.
In: The pathogenesis and treatment of thromboembolic diseases including coronary, cerebral and peripheral thrombosis.
Internat. Symp. Basel 1965, 193-208,
Schattauer Stuttg. 1966
19. DAM, H., I. PRANGE and E. SØNDERGAARD:
Effect of certain substances on vitamin A storage in liver of chick.
Acta pharmacol. et toxicol. 8, 1-22 (1952)
20. DIDISHEIM, P. and R.S. MIBASHAN:
Activation of the Hageman factor (Factor XII) by long-chain saturated fatty acids.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 9, 346-353 (1963)
21. DOLE, V.P.: A relation between non esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose.
J. Clin. Invest. 35, 150-154 (1956)
22. DORNBUSCH, S. und A. ZIELKE:
Die Beeinflussung der tierexperimentellen Arteriosklerose durch "essentielle" Phospholipide.
Med. Welt 33/34, 1685-1691 (1960)
23. DUFF, G.L. and R.H. MORE:
Bilateral cortical necrosis of the kidneys.
Amer. J. med. Sci. 201, 428-450 (1941)
24. DURRUM, E.L., M.H. PAUL and E.R.B. SCHMITH:
Lipid detection in paper electrophoresis.
Science 116, 428-430 (1952)
25. EGGSTEIN, M. und H. KREUTZ:
Eine neue Bestimmung der Neutralfette im Blutserum und Gewebe.
Klin. Wschr. 44, 267-273 (1966)
26. EIKERMANN, H.: Sonderstellung und Therapie der Atherosklerose im arteriosklerotischen Krankheitsgeschehen.
Fortschr. Med. 74, 381-382 (1956)

27. FARRAR, W.E., jr., L.M. CORVIN and T.H. KENT:
Mitochondrial fatty acid oxydation and
susceptibility to endotoxin in acute liver
injury.
J. Bact. 90, 1365-1372 (1965)
28. GERVASONI, L.-A. et A. VANNOTTI:
Vitamine E et artériosclérose (clin. méd.,
Lausanne).
Schweiz. med. Wschr. 86, 708-711 (1956)
- 28a GEBAUER, H.: In: Was fehlt? Vitamine für Mensch und Tier.
Leipzig 1956, Akademische Verlagsgesell-
schaft, GEEST und PORTIG K.G., S. 152-159
29. GORDON, R.S., jr. and A. CHERKES:
Unesterified fatty acids in human blood
plasma.
J. Clin. Invest. 35, 206-212 (1956)
30. GREIG, H.B. and I.A. BUNDE:
Studies on the inhibition of fibrinolysis
by lipids.
Lancet 1957 II. 461-464
31. GRONVALL, J.A. and J.G. BRUNSON:
The generalized Schwartzman phenomenon in
rats.
A.M.A. Arch. Path. 62, 324-334 (1956)
32. GROSS, Ph. und H. WEICKER:
Die Bedeutung des Lipidelektrophorese-
diagramms.
Klin. Wschr. 32, 509-514 (1954)
33. HALL, D.L., J.S. BROOM and J.G. BRUNSON:
Effects of epinephrine tolerance on the
Schwartzman phenomenon.
Amer. J. Path. 44, 431-436 (1964)
34. HIRSCH, R., D.G. MCKAY and R. IRELAND:
Endotoxin induced mobilization of lipids
in the rabbit.
Fed. Proc. 20, 274-277 (1962)
35. HOAK, J.C., W.E. CONNOR and E.D. WARNER:
Thrombogenic effects of albumin-bound fatty
acids.
Arch. Path. 81, 136-139 (1966)

- 36 HOAK, J.C., J.C.F. POOLE and D.S. ROBINSON:
Thrombosis associated with mobilization
of fatty acids.
Amer. J. Path. 43, 987-991 (1963)
37. HOIGNE, R.: Über die Veränderungen von Blutgerinnungs-
faktoren, Thrombozyten und Leukozyten im
anaphylaktischen Schock, beim Arthus Phä-
nomen und beim SSP.
Inaugural Diss. Zürich (1951)
38. HOLTORF, J. und H. HALLER:
Ein Beitrag zur Hyperlipidämie in der
Schwangerschaft.
Zbl. Gynäk. 77, 1685-1694 (1955)
39. HUTH, K.: Über das Verhalten der Serumlipide bei der
experimentellen Verbrauchskoagulopathie.
Habil. Schr. Gießen (1967)
40. HUTH, K., G. MÜLLER-BERGHAUS, H.-J. KRECKE und H.G. LASCH:
Das Verhalten der Blutlipide beim generali-
sierten Sanarelli-Schwartzman-Phänomen.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 70, 437-441
(1964)
41. HUTH, K., W. SCHOENBORN und Kl. KNORPP:
Experimentelle Verbrauchskoagulopathie
nach intravenöser Zufuhr von Fett und Endo-
toxin.
Thromb. Diath. haemorrh. (Stuttg.) 17,
129-143 (1967)
42. HUTH, K. und G. KARLICZEK:
Die Endotoxin-induzierte Hyperlipämie des
Kaninchens.
In: H. Bartelheimer und N. Heisig: Aktu-
elle Gastroenterologie.
Verh. der 24. Tagung der Dtsch. Gesellsch.
für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten
in Hamburg 1967, Georg Thieme Verlag,
Stuttgart (1968), S. 372-375
43. JENCKS, W.P. and E.L. DÜRRUM:
Paper electrophoresis as a quantitative
method: the staining of serum lipoproteins.
J. Clin. Invest. 34, 1437-1448 (1955)
44. JUCHEMS, R. und W. GROSS:
Zur Einwirkung von Cholin-Phosphatiden
auf die Blutlipide.
Med. Welt 44, 2387-2390 (1964)

45. KALEY, G., H. DEMOPOULOS and B.W. ZWEIFACH:
Occlusive vascularlesions induced by
bacterial endotoxin in kidney of preg-
nant rats.
Proc. Soc. Exper. Biol. Med. (N.Y.) 109,
456-459 (1962)
46. KARLICZEK, G.F.: Über den Einfluß von Reserpin auf das
generalisierte Sanarelli-Shwartzman-
Phänomen.
Diss. Gießen 1968
47. KAUNITZ, H., D.G. McKAY and R.E. JONSON:
Studies of the generalized Shwartzman
reaction induced by diet. VII. Lipid
composition of serum and tissues in the
Shwartzman reaction.
Metabolism 12, 996-1006 (1963)
48. KLEINMAIER, H., K. GOERGEN, H.G. LASCH, H.-J. KRECKE und
A. BOHLE:
Untersuchung zur Frage der Gerinnungsstö-
rungen beim SSP (sog. generalisiertes SP)
beim Kaninchen.
Z. ges. exp. Med. 132, 275-294 (1959)
49. KOLLER, F., C. GASSER, G. KRÜSI and G. de MURALT:
Purpura fulminas nach Scharlach mit Fak-
tor V-Mangel und Antithrombinüberschuß.
Acta haemat. (Basel) 4, 33-55 (1950)
50. KOMMERELL, B. und U.D. BERGER:
Untersuchungen zur Gerinnungsaktivität
und Fibrinolyse bei alimentärer Lipämie.
Klin. Wschr. 37, 1029-1033 (1959)
51. KOVATS, T.G., A. REÖK, St. KARADY:
Lipoprotein pattern in the course of
Shwartzman phenomenon.
Naturwiss. 45, 111 (1958)
52. KOVATS, T.G., A. REÖK, G. LAZAR, S. TAKATS und P. VEGH:
Veränderungen des Fettstoffwechsels wäh-
rend des Shwartzman-Phänomens und ihre
klinische Bedeutung.
Z. ges. Inn. Med. u. Grenzgeb. 16, 15-18
(1961)
53. KROETZ, Ch. und F.W. FISCHER:
Zur Blutchemie der akuten fortschreiten-
den Arteriosklerose. Elektrophoretische
Lipoproteinbestimmungen bei Atheromatose
und Atherosklerose.
Dtsch. med. Wschr. 79, 653-657 (1954)

- 54a KUSCHINSKY, G. und H. LÜLLMANN:
Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie.
2. Aufl. Thieme Stuttg. 1966, S. 26-37
54. LASCH, H.G., H.-J. KRECKE, F. RODRIGUEZ-ERDMANN, H.H. SESSNER
und G. SCHÜTTERLE:
Verbrauchskoagulopathie (Pathogenese und
Therapie).
Fol. haemat., NF. 6, 325-330 (1961)
55. LASCH, H.G., F. RODRIGUEZ-ERDMANN und H.-J. KRECKE:
Quantitative und qualitative Veränderungen
der Thrombozyten beim SSP.
Verh. Dtsch. Ges. inn Med. 66, 992-998 (1960)
56. LASCH, H.G. und F. RODRIGUEZ-ERDMANN:
The Sanarelli-Schwartzman phenomenon as
related to blood coagulation.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 7,
205-206 (1962)
57. LÜSCHER, E.F.: Die physiologische Bedeutung der Thrombo-
zyten.
Schweiz. med. Wschr. 86, 345-351 (1956)
58. LÜSCHER, E.F.: Biochemische Eigenschaften und physiolo-
gische Bedeutung der Blutplättchen.
Schweiz. med. Wschr. 89, 1021-1026 (1959)
59. MARGARETTEN, W., H.O. ZUNKER and D.G. McKAY:
Production of the generalized Schwartzman
reaction in pregnant rats by intravenous
infusion of thrombin.
Laborat. Invest. 13, 552-559 (1964)
60. MARGOLIS, J.: Activation of the Hageman factor by
saturated fatty acids.
Austral. J. Exper. Biol. Med. sc. 40,
505-512 (1952)
61. McKAY, D.G. and S.S. SHAPIRO:
Alterations in the blood coagulation system
induced by bacterial endotoxin. I. in vivo
(generalized Schwartzman reaction).
J. Exper. Med. 107, 353-365 (1958) und
J. Exper. Med. 107, 369-376 (1965)

62. McKAY, D.G., J.F. JEWETT and D.F. REID:
Endotoxinshock and the generalized Schwartzman reaction in pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 78, 546-566 (1959)
63. McKAY, D.G.: "Bacterial Endotoxins", Disseminated intravascular coagulation.
New York: Hoeber Medical Division, Harper u. Row, Publ., Inc., (1965) pp 791-817
64. McKAY, D.G., D. GITLIN and J.M. CRAIG:
Immunochemical demonstration of fibrin in the generalized Schwartzman reaction.
A.M.A. Arch. Path. 67, 270-273 (1959)
65. McKAY, D.G., T.G. WONG:
Studies of the generalized Schwartzman reaction produced by diet. I. Pathology.
J. Exper. Med. 115, 1117-1125 (1962)
66. McKAY, D.G. and H. KAUNITZ:
Studies of the generalized Schwartzman reaction induced by diet. V. Effect of cod liver oil diets on tissue lipids of female rats. VI. Effects of pregnancy on lipid composition of serum and tissues.
Metabolism 12, 983-985 and 12, 990-996 (1963)
67. MÜLLER-BERGHHAUS, G. and D.G. McKAY:
Prevention of the generalized Schwartzman reaction in pregnant rats by alpha-Adrenergic blocking agents.
Laborat. Invest. 17, 276-280 (1967)
68. MÜLLER-BERGHHAUS, G.:
Das Sanarelli-Schwartzman-Phänomen der schwangeren Ratte.
In: Urbaschek. Endotoxinschock. Sympos. Okt. 1967 Heidelberg, Springer Verlag Berlin-Heidelberg - New York. Im Druck
69. MÜLLER-BERGHHAUS, G., K. HUTH, H.-J. KRECKE und H.G. LASCH:
Blutlipide und intravasale Gerinnung in der Pathogenese des Sanarelli-Schwartzman-Phänomens.
Schweiz. med. Wschr. 94, 1519-1526 (1964)
70. MUELLER, J.F.: Vitamin B₆ in fat metabolism.
Vitamins and Horm. 22, 787-796 (1964)

71. NIKKILÄ, E.: Studies on the lipid-protein relationships in normal and pathological sera and the effect of heparin on serum lipoproteins. Scand. J. Clin. Laborat. Invest. 5. Suppl. 1-101 (1953)
72. OTTO, E.: Biometrie. Deutscher Bauernverlag, Berlin (1958)
73. PALMERIO, C., S.C. MING, E. FRANK and J. FINE: The role of the sympathetic nervous system in the generalized Shwartzman reaction. J. Exper. Med. 115, 609-612 (1962)
74. PAPPAS, G.D., M.H. ROSS and L. THOMAS: Studies on the generalized Shwartzman reaction. VIII. The appearance, by electron microscopy, of intravascular fibrinoid in the glomerular capillaries during the reaction. J. Exper. Med. 107, 333-340 (1958)
75. PAPPENHAGEN, A.R., J.L. KOPPEL and J.H. OLWIN: Observations on the in vitro effects of chylomicra, low density lipoproteins and phospholipids on human plasma euglobulin lysis. Thrombos. Diathes. haemorrh. 9, 164-174 (1963)
76. PEZOLD, F.A.: In: F.A. Pezold. Lipide und Lipoproteide im Blutplasma. Springer Verlag Berlin-Göttingen-Heidelberg (1961) S. 113-131
77. PHYSIOLOGISCHES INSTITUT MARBURG: Physiologisches Praktikum, hsg. 1963
78. PILKINGTON, T.R.E.: The effect of fatty acids and detergents on calcium clotting time of human plasma. Clin. Sc., London 16, 269-274 (1957)
79. POOLE, J.C.F.: Fats and blood coagulation. Brit. Med. Bull. 14, 253-258 (1958)
80. POOLE, J.C.F.: The effect of certain fatty acids on the coagulation of plasma in vitro. Brit. J. Exper. Path. 36, 248-253 (1955)

81. RASCHENBACH, G.: Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß von Heparin und linolsäurereichen Cholinphospholipiden auf den Fett-, Kohlenhydrat- und Intermediärstoffwechsel bei Gesunden und Arteriosklerotikern. Untersuchungen zur Frage der Klärinsuffizienz bei der Arteriosklerose. Dissert. Frankfurt/M (1967)
82. RENAUD, S.A., C. ALLARD:
Thrombosis in connection with serum lipid changes in the rat.
Circulat. Res. 11, 388-391 (1962)
83. RODRIGUEZ-ERDMANN, F.:
Studies on the pathogenesis of the generalized Shwartzman reaction. I. Alteration in the coagulation system during the generalized Shwartzman reaction of the pregnant rabbit.
Thromb. et diath. haemorrh. XII. 452-461 (1964)
84. RODRIGUEZ-ERDMANN, F. und H.G. LASCH:
Die Rolle von intravasal auftretendem Thrombin beim SSP.
Verh. 8. Kongr. d. Europ. Ges. f. Hämatol. Wien 1961 Karger, Basel 1962
85. SANARELLI, G.: Le Choléra Experimental.
Ann. Inst. Pasteur. 38, 11-72 (1924)
86. SCHÖN, H. und W. ZELLER:
Über die Bedeutung erhöhter Serumlipidwerte für die Atherogenese. Behandlungsmöglichkeiten.
Münch. med. Wschr. 104, 2433-2440 (1962)
87. SCHÖN, H. und H. JÖRG:
Zur Therapie der hyperlipämischen Atherosklerose.
Ärztl. Forschg. 17, 491-495 (1963)
88. SCHRADE, W., R. BIEGLER und E. BÖHLE:
Die Veränderungen der essentiellen Fettsäuren des Blutes bei verschiedenen Krankheiten, ihre Bewertung und ihre Bedeutung für die Ernährung.
Schweiz. med. Wschr. 89, 117-124 (1959)

89. SCHWARZ, O.H., S.D. SOULE and B. DUNIE:
Bloodlipids in pregnancy.
Amer. J. Obst. Gynec. 39, 203-213 (1940)
90. SCHETTLER, F.G. and R. SANWALD:
Vitamins.
In: Atherosclerosis: pathology, physiology, aetiology, diagnosis and clinical management, Ed. F.G. Schettler and G.S. Boyd with a foreword by Paul Dudley White (Boston, Mass). Elsevier publishing company Amsterdam-London-New York 1969 pp 891-899
91. SEN, I.P.:
Über den Einfluß von qualitativ verschiedenen Fetten auf einige biochemische Indices bei Ratten im Vitamin E-Mangel (Vitamin-Institut Moskau). Vopr. Pitan. 6, 41-49 (1964)
92. SHWARTZMAN, G.: A new phenomenon of local skin reactivity of b. typhosus culture filtrate.
J. Exper. Med. 48, 247-268 (1928)
93. SHWARTZMAN, G.: Phenomenon of lokal tissue reactivity.
New York, 1937, Paul B. Hoeber, Inc. pp 139-140
94. SYMEONIDIS A.: Eclampsia-like condition in pregnant rats injected with progesterone.
J. Nat. Cancer Inst. 10, 711-717 (1949)
95. SPINK, W.W., J. REDDIN, S.J. ZAK, M. PETERSON, B. STRAZECKI and E. SELJESKOG: Correlation of plasma catecholamine levels with haemodynamic changes in canine endotoxin shock.
J. Clin. Invest. 45, 78-85 (1966)
96. STAMLER, F.W.: Fatal eclamptic disease of pregnant rats fed anti-Vitamin E stress diet.
Amer. J. Path. 35, 1207-1231 (1959)
97. STAMLER, F.W.: Toxemia of pregnancy induced by progesterone in the rat.
Fed. proc. 20, 408-412 (1961)
98. STEPP, W., J. KÜHNAU, H. SCHRÖDER:
In: Die Vitamine und ihre klinische Anwendung.
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, Band II (1957), S. 735-746

99. SWELL, L., M.D. LAW, P.E. SCHOOLS, jr., C.R. TREADWELL:
Tissue lipid fatty acid composition in
pyridoxine deficient rats.
J. Nutrit. (USA) 74, 148-156 (1961)
100. THOMAS, L. and R.A. GOOD:
Studies on the generalized Schwartzman
reaction.
J. Exper. Med. 96, 605-624 (1952)
101. WAGNER, H. und O. WAGNER:
Stoffwechsel von Fettsäuren unter dem
Einfluß des Vitamins E und Vitamins B₆.
Med. und Ernährung 5, 285-286 (1964)
102. WATSON, D.:
Simple method for the determination of
serum cholesterol.
Clin. Chim. Acta 5, 637-643 (1960)
103. WAUGH, D. and M.J. PEARL:
Serotonin-induced acute nephrosis and renal
cortical necrosis in rats. A morphologic
study with pregnancy correlation
Amer. J. Path. 36, 431-455 (1960)
104. WEBER, E., S. MALESSA und H.G. LASCH:
Veränderungen der freien Thrombozyten-
nucleotide beim SSP.
Thrombos. Diathes. haemorrh. (Stuttg.) 9,
304-316 (1963)
105. WEBER, F. und D. WISS:
Veränderungen von Enzymaktivitäten durch
Vitamin B₆-Mangel, in: Vitamine. Hoffmann-
La Roche 1968, Grenzach, Baden, S. 7-20
106. WEITZEL, G.:
Vitamin E in der experimentellen Arterio-
sklerose. III. Internationaler Kongreß
Venedig, September 1955, Edizioni Valdonega
Verona (1956)
107. WESTERMANN, E.: Die Lipolyse und ihre pharmakologische
Beeinflussbarkeit.
Fette in der Medizin 7, 8-13 (1965)
108. WESTERMANN, E.: Sympathicus und Fettstoffwechsel.
Acta Neuroveget. 30, 19-29 (1967)

109. WONG, T.G.: A study on the generalized Shwartzman reaction in pregnant rats induced by bacterial endotoxin.
Amer. J. Obst. Gynec. 84, 786-797 (1962)
110. WURTMANN, R.J.: Catecholamines.
New England J. of Med., Medical progress Series. Little, Brown and Cie., Boston 62-66 (1966)
111. ZWEIFACH, B.W. and L. THOMAS:
The relationship between the vascular manifestations of shock produced by endotoxin, trauma and haemorrhage.
I. Certain similarities between the reactions in the normal and endotoxin-tolerant rat.
J. Exper. Med. 106, 385-401 (1957)

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. H.G. Lasch für die Überlassung des Themas und für die verständnisvolle Förderung meiner Arbeit sowie für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in der Medizinischen Klinik in Gießen meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. H.G. Blobel für die Annahme des Themas, für sein stets erwiesenes Interesse und für die abschließende Durchsicht der Dissertation.

Herrn Priv.Do. Dr. K. Huth von der Medizinischen Klinik in Gießen danke ich besonders herzlich für die wertvollen Anregungen und die jederzeit bereitwillig gewährte Beratung bei den aufgetretenen Fragen sowie für die kritische Durchsicht der Arbeit.

Herrn Dr. G. Müller-Berghaus in der Medizinischen Klinik in Gießen danke ich vielmals für die jederzeit bereitwillig gewährte Unterstützung bei der Durchführung der Experimente sowie für die durchgeführten histologischen Untersuchungen und deren Auswertung.

Lebenslauf

Am 20.9.1936 wurde ich, Efthimios Jannakopulos, als Sohn des Korinthenbauers Athanasios Jannakopulos und seiner Ehefrau Penelope, geborene Vasilakopulos, in Kunina, Kreis Aegion, Griechenland, geboren. Von 1942 bis 1948 besuchte ich die Volksschule sowie von Herbst 1948 bis zur Ablegung der Reifeprüfung im Herbst 1954 das Knabengymnasium in Aegion, Griechenland. Anschließend arbeitete ich bis Sommer 1957 als Buchhalter in einer Großhandlung in Athen.

Mit dem Wintersemester 1957 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Justus Liebig-Universität in Gießen, wo ich am 20. März 1967 die Tierärztliche Prüfung bestand. Seit Juli 1962 bin ich mit der zahnärztlichen Helferin Gerlinde, geborene Silzer, verheiratet, aus der Ehe stammen 2 Kinder.

Die Veterinär-Praktikantenzeit leistete ich bei Herrn Dr. H. Henn in Puderbach/Westerwald ab; danach arbeitete ich ein Vierteljahr als Assistent bei ihm.

Vom 1. Februar 1968 bis 30. September 1968 war ich als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Medizinischen Klinik der Justus Liebig-Universität Gießen, vom 6. Januar 1969 bis 31. März 1969 als wissenschaftliche Hilfskraft am Veterinär-Physiologischen Institut der Justus Liebig-Universität in Gießen tätig.

